

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE VETERINARIA
Departamento de Patología Animal II



**CRISTALURIA FELINA : CUANTIFICACIÓN DE
GLICOPROTEÍNAS URINARIAS BAJO DIFERENTES
CONDICIONES DE ALIMENTACIÓN**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

Alfredo Bengoa Rodríguez

Bajo la dirección de los doctores

Manuel Rodríguez Sánchez
Miguel Ángel Tesouro Díez

Madrid, 2002

Universidad Complutense de Madrid
Facultad de Veterinaria

Departamento de Patología Animal II

Cristaluria felina.
Cuantificación de glicoproteínas urinarias
bajo diferentes condiciones de
alimentación.

Tesis Doctoral

Alfredo Bengoa Rodríguez

Madrid, 1995

Universidad Complutense de Madrid

Facultad de Veterinaria

Departamento de Patología Animal II

Cristaluria felina.

**Cuantificación de glicoproteínas urinarias
bajo diferentes condiciones de alimentación.**

Tesis Doctoral

El Director del Trabajo:

Dr. Manuel Rodríguez

El Codirector:

Dr. Miguel Tesouro

Memoria que presenta

El Ldo. Alfredo Bengoa

Rodríguez para el acceso

al grado de Doctor.

Madrid, 1995

"... Solo, importante y sabio
levanta a la Luna cambiante
sus cambiantes ojos."
(W.B. Yeats)

Índice

Cristaluria felina. Cuantificación de glicoproteínas urinarias bajo diferentes condiciones de alimentación.

1.Introducción.	1
2. Revisión bibliográfica.	4
2.1. Antecedentes.	5
2.1.1. Historia.	5
2.1.2. Concepto actual de la enfermedad.	5
2.2. Anatomía del aparato urinario del gato.	6
2.3. Factores predisponentes de la enfermedad.	7
2.3.1. Castración.	7
2.3.2. Raza.	7
2.3.3. Edad.	7
2.3.4. Actividad.	8
2.3.5. Disponibilidad de líquido.	8
2.3.6. pH de la orina.	8
2.3.7. Alimentación.	8
2.4. Etiopatogenia.	9
2.4.1. Bacteriana.	9
2.4.2. Vírica.	10
2.4.3. Cristaluria.	10
2.5. Fisiopatología.	11
2.5.1. Animales sin obstrucción uretral.	11
2.5.2. Animales con obstrucción uretral.	12
2.5.2.1. Composición de los tapones.	12
2.5.2.1.1. Glicoproteínas urinarias.	12
2.5.2.1.2. Cristales de estruvita.	14
2.5.2.2. Localización de los tapones.	14
2.5.2.3. Lesiones renales.	14
2.6. Diagnóstico.	15
2.6.1. Clínico.	15

2.6.2. Laboratorial.	16
2.6.3. Radiológico.	17
2.6.4. Ecográfico.	17
2.7. Diagnóstico diferencial.	18
2.7.1. Infecciones.	18
2.7.2. Malformaciones congénitas.	18
2.7.3. Urolitos vesicales.	18
2.7.4. Traumatismos.	18
2.7.5. Disfunciones neurológicas.	19
2.8. Tratamiento.	19
2.8.1. Profilaxis.	19
2.8.2. Tratamiento médico.	19
2.8.3. Tratamiento nutricional.	21
2.8.4. Tratamiento quirúrgico.	22
3. Objetivos.	23
4. Plan de trabajo.	25
5. Material y métodos.	27
5.1. Animales del estudio.	28
5.1.1. Descripción de los animales.	28
5.1.2. Controles previos de los animales.	28
5.1.3. Descripción de la instalación.	34
5.1.4. Descripción de la alimentación.	35
5.1.4.1. Control.	35
5.1.4.2. Problema 1.	35
5.1.4.3. Problema 2.	37
5.1.5. Muestras uretrales procedentes de animales de la sala de necropsias.	37
5.2. Material técnico y reactivos.	37
5.2.1. Material de laboratorio.	37

5.2.2. Reactivos.	38
5.2.2.1. Determinación de creatinina.	38
5.2.2.2. Determinación de proteínas urinarias.	38
5.2.2.3. Curva patrón de siálico.	39
5.2.2.4. Determinación de siálico.	39
5.2.2.5. Determinación de fucosa.	40
5.2.2.6. Electroforesis en tira de celulosa.	40
5.2.2.7. Formación de cristales de estruvita.	40
5.2.2.8. Tinciones para microscopía óptica.	41
5.2.2.9. Microscopía electrónica.	41
5.3. Métodos.	43
5.3.1. Urianálisis.	43
5.3.1.1. Sedimento de orina.	43
5.3.1.2. Densidad urinaria.	43
5.3.1.3. Creatinina en orina.	43
5.3.2. Preparación de las muestras para la determinación de proteínas y siálico.	44
5.3.3. Determinación de proteínas.	45
5.3.4. Determinación de siálico.	45
5.3.5. Determinación de fucosa.	48
5.3.6. Electroforesis en tiras de celulosa.	48
5.3.7. Cristalización de la estruvita.	49
5.3.8. Microscopía óptica.	50
5.3.9. Microscopía electrónica.	50
5.3.10. Métodos de análisis estadístico.	50
6. Resultados.	51
6.0. Determinación de fucosa.	52
6.1. Animales control.	52
6.2. Animales problema 1.	59
6.3. Animales problema 2.	67

6.4. Estudio histológico.	74
6.4.1. Estructural.	74
6.4.2. Ultraestructural.	74
6.5. Cristalización de la estruvita a diferentes valores de pH.	85
 7. Discusión.	95
7.1. Comparación de los resultados obtenidos de gatos control y de gatos problema en la primera y segunda experiencia.	96
7.2. Comparación del estudio histológico de la uretra del gato en diferentes edades.	107
7.3. Comparación de las diferentes formas de los cristales de estruvita dependiendo del valor pH.	108
 8. Conclusiones.	109
 9. Resumen.	111
 10. Bibliografía.	113

1. Introducción

1. Introducción.

Un hallazgo muy frecuente en la clínica felina es el de las alteraciones en la micción, posiblemente porque resulta muy llamativo para el propietario el aumento de "visitas" del animal al lugar donde normalmente orina. Si a este hecho se le une la intranquilidad del gato, es muy fácil que la persona responsable del animal opte por acudir a la consulta del veterinario.

Una de las posibles explicaciones de la gran frecuencia en los diagnósticos de las enfermedades de las vías urinarias inferiores, podría ser, precisamente, lo evidente del cuadro clínico, aunque hay muchas alteraciones que cursan con un comportamiento parecido.

El agrupar todos los procesos obstructivos, intraluminares y extraluminares, de la uretra bajo una misma denominación, puede dar lugar a interpretaciones erróneas.

Clásicamente se conoce como FUS (Síndrome Urológico Felino) a aquel síndrome en el que se presentan, juntas o no, disuria, hematuria, cristaluria y obstrucción uretral.

Para nosotros en el presente trabajo el término FUS significa, en realidad, la expresión de la urolitiasis felina por estruvita, dejando de lado la denominación, muy genérica de "Enfermedad de las Vías Urinarias Inferiores" (LUTD) que engloba otro tipo de patologías como pueden ser: Malformaciones congénitas, procesos tumorales e infecciosos del tracto urinario.

La descripción del problema clínico es muy antigua y hay registros del último tercio del siglo XIX del Instituto de Patología de Dresden, citados por Huttyra en 1938, en los que se describe cristaluria en el gato. Fué en el año 1925 cuando Kirk describe como muy común la urolitiasis por estruvita en esta especie animal (Kirk, 1925).

Durante las últimas tres décadas aparecen gran cantidad de publicaciones referidas a las enfermedades urinarias de los gatos, en muchos de estos trabajos el enfoque del problema se dirige hacia la investigación de la etiología, habiéndose encontrado una multitud de factores que influyen en el desarrollo de la enfermedad. No es raro que la expresión

"Etiología multifactorial" encabece dichos estudios. El gran número de publicaciones es fruto de la existencia de múltiples grupos de trabajo preocupados por este tema.

A nosotros siempre nos llamó la atención el efecto que una cristaluria prolongada en el tiempo podría tener sobre el epitelio uretral y las reacciones de protección de este frente a la agresión.

Según Fernandez et al. (1989) la incidencia de enfermedades urinarias del gato representa un 3'8 % de las consultas felinas en España. Como podemos observar, la importancia de este tema en la clínica de pequeños animales es muy grande.

2. Revisión bibliográfica

2. Revisión bibliográfica.

2.1. Antecedentes.

2.1.1. Historia.

Las primeras referencias de la litiasis vesical en el hombre aparecen hace 7.000 años, con el hallazgo de urolitos compuestos por fosfato cálcico y ácido úrico en la momia de un joven de dieciséis años, muerto en El Amrah en el antiguo Egipto (Michell, 1988).

La urolitiasis felina fue descrita en el siglo XIX en el Instituto de Patología de Dresden (Hutyra, 1938), más adelante la cristaluria felina es tratada en un texto titulado Enfermedades del gato (Kirk, 1925).

En la década de los 70 aparecieron trabajos que sugerían como agentes etiológicos del síndrome urológico felino, primero a los virus y después a las bacterias.

A lo largo de toda la década de los 80 se publicaron un gran número de trabajos y se empezó a considerar la cristaluria como causa de la enfermedad, asociándose esta a factores metabólicos. En determinados trabajos se citaba el alto contenido en magnesio de la dieta como único causante del F.U.S. en el gato, sin tener en cuenta el compuesto magnésico que el animal ingería. Más adelante, se descubrió que era el pH urinario el factor más importante en la aparición de cristales de estruvita, desarrollándose un gran número de publicaciones que hablaban sobre la eficacia de los acidificantes urinarios en el tratamiento del F.U.S. (Markwell, 1991).

2.1.2. Concepto actual de la enfermedad.

Dentro de la nebulosa denominación de FUS, clásicamente se han incluido todo tipo de procesos que afectan a las vías urinarias inferiores (vejiga y uretra) del gato, teniendo en

cuenta que la manifestación de las diferentes alteraciones de esta zona siempre aparece como una hematuria acompañada de disuria y a veces de obstrucción uretral (Osborne et al., 1984) (Lawler, 1988) (Gaskell, 1988). El conjunto de enfermedades que cursan con la presencia de estos signos urológicos es muy amplio, agrupando procesos metabólicos, inflamatorios, traumáticos, neurológicos, yatrogénicos, teratógenos, neoplásicos y por último idiopáticos (Osborne, 1995). Es necesario diagnosticar el origen de las alteraciones en la micción para poder dar un enfoque más preciso a cada caso clínico. De la misma forma, hablar de enfermedad de las vías urinarias inferiores (LUTD), plantea el mismo problema. Ciñendonos a la forma de presentación identificada como la de mayor frecuencia en la clínica en el presente estudio trataremos de la cristaluria de estruvita con formación de un tapón de naturaleza amorfa (Carbone, 1965; Osborne, 1984b; Barsanti, 1986; Jones, 1991).

2.2. Anatomía del tracto inferior urinario del gato.

La uretra, en las gatas, es un conducto que une la vejiga de la orina con la vagina, este conducto tiene una longitud mucho menor que en el macho y su diámetro es constante, por estas características la presentación de la enfermedad en su forma obstructiva en hembras de esta especie es muy poco frecuente.

En el gato la uretra es bastante larga, presenta dos cambios de dirección y tiene un diámetro variable. La uretra se divide, en el macho en: Uretra abdominal, uretra prostática, uretra membranosa, uretra sigmoidea y uretra peneana. Hay dos glándulas anejas a la estructura uretral, la primera de ellas y la más craneal es la próstata que rodea completamente a la uretra. La segunda glándula en realidad es doble, son las glándulas bulbouretrales y se encuentran una a cada lado de la uretra cranealmente a la inserción del músculo isquiocavernoso. Este largo trazado presenta, al menos, dos zonas de estrechamiento, la uretra prostática y la uretra peneana. La localización más frecuente de las obstrucciones uretrales es esta última (Gaskell, 1978; Johnston, 1984; Hanson, 1984).

2.3. Factores predisponentes de la enfermedad.

2.3.1. Castración.

En muchas publicaciones se ha descrito la castración de los animales como uno de los factores que podían influir en el aumento de riesgo de contraer la enfermedad, quizás porque los estudios estadísticos realizados introducían un sesgo al basarse en datos de animales que se presentaban en las clínicas , que normalmente viven en compañía del hombre y en los que la castración es una práctica común para evitar fugas, marcaje , etc.

No hay cambios anatómicos en la uretra que diferencien animales castrados de animales enteros (Dorn,1973; Duch,1978; Willeberg,1984).

2.3.2. Raza.

Se ha citado como factor predisponente la raza del animal, afirmando que los gatos persas tienen un mayor riesgo de padecer la enfermedad frente al grupo de animales de pelo corto.

No se ha encontrado asociación entre capa y longitud y aumento de riesgo (Willeberg,1984) (Dorn,1973).

2.3.3. Edad.

El mayor número de casos clínicos encontrados se sitúan al rededor de los dos y los seis años de edad (Willeberg,1984).

2.3.4. Actividad.

El sedentarismo es otro de los factores que directamente aumentan el riesgo de enfermedad (Willeberg, 1984).

2.3.5. Cantidad de líquido disponible.

La disminución en el volumen de agua de bebida puesta al alcance del animal es otro de los factores que aumentan el riesgo de padecer la enfermedad, por un lado debido a que aumenta la concentración de la orina y por otro lado debido a la disminución del número de micciones diarias que hace aumentar el tiempo de permanencia de la orina en la vejiga (Jackson, 1977; Chew, 1988).

2.3.6. pH de la orina.

El aumento del pH de la orina favorece la formación de cristales de fosfato amónico magnésico hexahidrato (estruvita) (Chew, 1988; Edling, 1990).

2.3.7. Alimentación.

El consumo de alimentos secos se ha citado como factor de riesgo, pero si tenemos en cuenta que la enfermedad ya fué descrita como "muy frecuente" en 1925 y evidentemente en esas épocas no existían alimentos secos para gatos, no creemos que desde la aparición de este tipo de alimentos el número de casos en la clínica tenga relación con el incremento de animales consumidores de este tipo de dieta (Barker, 1973; Follis, 1975; Fachada, 1991).

La alimentación es uno de los riesgos primarios de la urolitiasis por estruvita, sus componentes influyen en el pH, la concentración de solutos y el volumen de la orina. Los ingredientes de la dieta afectan al pH y a la composición mineral de la orina, debido a su

forma química y su grado de absorción y metabolismo. Los constituyentes de alimentos que mayor efecto ejercen sobre el pH son los fosfolípidos, los cuales, y debido a su hidrólisis, acidifican la orina, y las sales de los ácidos orgánicos que pueden alcalinizarla, sobre todo aquellas sales que proceden de la materia vegetal.

El efecto de las proteínas sobre el pH urinario depende de la cantidad de los aminoácidos azufrados, ya que estos en su oxidación liberan ácido sulfúrico.

Con respecto al contenido en magnesio en la dieta hay una gran cantidad de trabajos que le señalan como el único responsable de la urolitiasis por estruvita. Desde la publicación en 1984 de un trabajo relacionado con acidificantes de la orina, este punto de vista ha dado un giro de 180°. En realidad, cuando se habla del contenido de magnesio de la dieta debería especificarse cual es el tipo de compuesto que incluye este mineral. Hay dos grupos distintos de sales de magnesio atendiendo a su efecto sobre el pH urinario, por un lado aquellas que alcalinizan la orina como por ejemplo el óxido de magnesio y el carbonato de magnesio (Buffington, 1985) y un segundo grupo que acidifican la orina cuyos ejemplos pueden ser el cloruro de magnesio y el sulfato de magnesio (Buffington, 1989; Nguyen, 1990; Kienzle, 1991; Skoch, 1991).

2.4. Etiopatogenia.

2.4.1. Bacteriana.

El tracto urinario del gato no contiene normalmente bacterias si exceptuamos la porción distal de la uretra, las características físicoquímicas de la orina no son óptimas para el crecimiento bacteriano (pH ácido, orina concentrada y grandes cantidades de urea).

Durante los últimos treinta años los trabajos publicados que hacen referencia a infecciones bacterianas, basándose en uricultivos, arrojan unos resultados muy diferentes, disminuyendo radicalmente el número de casos positivos desde que algunos autores han realizado estudios de las adversas consecuencias que tiene la utilización del sondaje uretral

para la obtención de muestras microbiológicas (Lees,1981) (Lees,1984 a-b).

Posiblemente, las infecciones bacterianas pueden resultar un factor importante en la enfermedad de las vías urinarias inferiores, pero en todo caso, y según los estudios realizados, el tanto por ciento de urocultivos positivos es muy reducido (Dorn,1973; Barsanti,1982a; Martens,1984; Chew,1988; Lawler,1988; Shaw,1990).

2.4.2. Vírica.

Algunos autores han citado casos de hematuria, disuria, anuria, obstrucción uretral, cistitis hemorrágica y producción de arenillas y pequeños urolitos aislando como agente causal un Herpesvirus (Rich,1969).

Fabricant en 1977 realizó un estudio inoculando Herpesvirus felino, Calicivirus Manx y los dos anteriores juntos, encontrando que los gatos desarrollaban signos clínicos de urolitiasis y algunos de ellos obstrucción uretral (Fabricant,1977; 1984).

Otros autores no han conseguido reproducir la enfermedad inoculando intravesicalmente orina de gatos afectados (Jackson,1975).

Un tercer grupo de autores consideran que todavía no hay suficientes datos y que si se requieren infecciones duales sinérgicas para producir la enfermedad los estudios anteriores utilizando infecciones simples podrían tener un valor relativo por esta situación (Lawler,1988; Chew,1988; Buonavoglia,1991).

2.4.3. Cristaluria.

La orina es una solución normalmente sobresaturada compleja formada por iones, agregados de iones y moléculas orgánicas, la cristalización de la estruvita depende en primer lugar de las actividades de los cationes magnesio y amonio, y el anión fosfato. La actividad

de estos solutos se ve afectada por la temperatura, la fuerza iónica, concentración de otros solutos y pH de la orina. La temperatura y la fuerza iónica son factores casi constantes en el interior de una vejiga, de manera que las variables concentración de iones y pH de la orina son los factores determinantes primarios de la cristalización de la estruvita. Cuando también el pH y la concentración de solutos en la orina son constantes la concentración de cristales depende solamente del producto de la actividad de los tres iones constituyentes de la estruvita. El producto de la actividad se expresa como su logaritmo negativo (pMAP), a un pMAP elevado no se produce cristalización y los cristales preformados se disuelven. Cuando el pMAP es bajo, la orina se sobresatura, los cristales preformados en este caso no se disolverán y hasta pueden crecer. La energía libre necesaria para la formación de cristales se expresa como pK_{fp} y se alcanza en el producto de formación de estruvita $pK_{fp} = 12.6$. Cuando la energía alcanza el producto de formación de estruvita, la orina está sobresaturada y se produce la cristalización espontánea y el crecimiento rápido de los cristales. El determinante primario del pMAP es el pH de la orina porque determina la proporción de iones amonio y fosfato, siendo predominante el efecto del pH sobre la proporción de fosfato en la formación de estruvita, es decir, a medida que el pH aumenta la concentración de ión fosfato aumenta. Los cristales de estruvita aparecen raramente en orinas con pH menor de 6.4 y es frecuente encontrarlos en orinas con un pH mayor de 7. Las copiosas comidas originan una alcalinización de la orina (nivel alcalino postprandrial) que puede fomentar la formación de cristales de estruvita, este dato aparece en las formas de alimentación racionada. En la alimentación "ad libitum" el animal ingiere la comida distribuida en 10 - 20 tomas, atenuando el grado de alcalinización postprandrial (Morgan, 1979; Barsanti, 1982a; Hesse, 1985; Finco, 1985; Osborne, 1985; 1990b; Buffington, 1989a; 1989c; 1992b; Ling, 1990).

2.5. Fisiopatología.

2.5.1. Animales sin obstrucción uretral.

Cualquier causa que produzca una agresión en el epitelio vesical y uretral desencadena la aparición de lesiones inflamatorias en la vejiga (cistitis) y en la uretra (uretritis), a veces

en ambas al mismo tiempo, a partir de este punto se desencadena la hiperproducción de glicoproteínas y otros productos de la inflamación. El desarrollo de la enfermedad incluye tres vías; la primera es la continuación de la inflamación, la segunda es la resolución de los signos clínicos y la tercera el desarrollo de una obstrucción uretral. Esta tercera vía se produce, casi exclusivamente, en los machos (Chew,1988; Ryan,1989; Osborne,1995).

2.5.2. Animales con obstrucción uretral.

Debido a la longitud y diámetros de la uretra del macho, este es prácticamente el único que presenta obstrucción uretral. La causa de la obstrucción uretral es la existencia de tapones uretrales (Chew,1988) (Osborne,1995).

2.5.2.1. Composición de los tapones.

El análisis de los tapones que causan la obstrucción uretral ha demostrado que la composición de estos es la unión de cristales a una matriz amorfa.

El mineral hallado en el noventa por ciento de los casos como predominante es la estruvita, en un cinco por ciento los tapones están formados solamente por matriz, en un dos por ciento por oxalato cálcico, en un dos por ciento por fosfato cálcico y en un uno por ciento por urato amónico (Osborne,1992).

2.5.2.1.1. Glicoproteínas urinarias.

La composición de la matriz amorfa del tapón uretral es:

- Células descamadas de los urotelios.
- Células o restos celulares de la sangre.
- Exudados inflamatorios.
- Glicoproteínas.

La glicoproteína de Tamm-Horsfall ha sido citada como componente de la sustancia amorfa de los tapones uretrales. Pero la glicoproteína de Tamm-Horsfall se produce en los túbulos renales y en el comienzo de la enfermedad el riñón es un órgano no afectado.

La sustancia producida por las células epiteliales debe ser nombrada como glicoproteína del moco (Reid,1978).

En las irritaciones del epitelio puede aumentarse el número de células secretoras de glicoproteínas del moco (Jones,1978).

Las responsables de las características físicas del moco son las glicoproteínas (Creeth,1978; Harding,1989).

Las propiedades fisicoquímicas del moco dependen del contenido en carbohidratos y proteínas de las glicoproteínas del moco (Clamp,1978).

La síntesis de las glicoproteínas del moco se realiza en los ribosomas incluidos en el Retículo Endoplásmico Rugoso (R.E.R.).

El almacenamiento se produce en vesículas y la secreción se vierte al exterior por la apertura de estas vesículas por exocitosis (Phelps,1978).

En las vías respiratorias se ha estudiado la secreción del moco y este se produce en dos lugares. En unas glándulas submucosas y en las células caliciformes de la superficie epitelial. En este estudio se demuestra que la irritación aguda produce un aumento de secreción de moco. La irritación crónica y la inflamación crónica producen hiperplasia e hipertrofia de las células productoras de moco. Los estimulantes de los receptores β adrenérgicos causan la secreción de moco (Widdicombe,1978; Morris,1978; Parke,1978; Rhodes,1992).

2.5.2.1.2. Cristales de estruvita.

Los cristales de fosfato amónico magnésico hexahidrato (Estruvita) son aglutinados por la matriz componente del tapón uretral. La forma de los cristales de estruvita es típica, descrita como ortorrombica es decir que posee tres ejes desiguales que se cortan en ángulos rectos. Clasicamente se les ha descrito como cristales con forma de tapa de ataúd (Osborne,1990c). Aunque en los estudios cristalográficos realizados sobre esta sustancia demuestran una morfología variable dependiente de la concentración de los componentes de la estruvita y del valor del pH en su cristalización. Apareciendo morfologías concretas que están formadas por cristales simples o por agregación de estos en forma de rama de pino o estrella (Arbona,1985).

2.5.2.2. Localización de los tapones.

Los tramos de la uretra descritos como localización más frecuente de los tapones son la uretra peneana, la uretra a nivel de las glándulas bulbouretrales y en el cuello de la vejiga (Johnston,1984; Chew,1988; Gaskell,1990a; 1990b).

2.5.2.3. Lesiones renales.

La obstrucción de la uretra produce una imposibilidad en el vaciado de la vejiga de la orina. Los riñones siguen produciendo orina y esta es llevada a la vejiga por los uréteres. El tamaño de la vejiga de la orina aumenta debido a la gran capacidad de distensión de sus paredes. Cuando se alcanza el límite máximo de ensanchamiento la presión intravesical aumenta y las válvulas de los uréteres se fuerzan, ascendiendo por estos la orina de nuevo hacia la pelvis renal, de forma retrógrada. La filtración glomerular disminuye por el aumento de la presión hidrostática intratubular, el descenso de la filtración glomerular da como resultado un síndrome de urémia. La retención de los productos del metabolismo proteico produce azotemia. La uremia de obstrucción está asociada con, anorexia, debilidad muscular, depresión y deshidratación. Aparece así mismo una severa acidosis. Hay una gran

hiperkalemia que potencialmente es la anormalidad de los electrolitos que pone en peligro la vida del animal. El potasio sérico aumenta por encima de los 8 meq./l. (Barsanti,1984).

Los signos de uremia aparecen entre 24 y 48 horas después de la obstrucción completa. A las 48 horas aparecen depresión y vómitos. Normalmente a las 72 horas de la obstrucción completa los gatos suelen morir aunque se ha comprobado que algunos animales pueden sobrevivir a periodos de 98 horas. Cuando la obstrucción recidiva se induce un desarrollo más rápido de la uremia (Chew,1988).

2.6. Diagnóstico.

2.6.1. Clínico.

* Anamnesis: Es muy importante determinar en la anamnesis una lista de datos observables por el propietario. En primer lugar, suele ser muy llamativo el aumento en la frecuencia de las micciones (polaquiuria), el animal visita a menudo su bandeja y mantiene durante mucho tiempo la postura típica de micción. A la vez el animal puede quejarse porque su micción es dolorosa, a veces el animal orina en lugares no usuales, siempre emitiendo pequeñas cantidades de orina que puede ser o no sanguinolenta (hematuria macroscópica), se observa también un lamido excesivo de los genitales. El gato adopta una posición encorvada con gemidos o aullidos ocasionales. Los signos urémicos (insuficiencia postrenal aguda) en los animales con obstrucción uretral pueden ser detectados por el propietario en forma de:

- Anorexia.
- Debilidad y depresión.
- Vómitos.
- Coma urémico.

* Exploración física. Debemos distinguir dos formas de presentación:

-No obstructiva: Ausencia de enfermedad sistémica, temperatura normal, hidratación normal, a la palpación la vejiga aparece pequeña y puede ser dolorosa,

al palpar la vejiga, si esta contiene algo de orina, sale al exterior. Aparece una lesión irritativa en el pene o en la vagina, la palpación rectal muestra una uretra engrosada.

-Obstrutivo: Aparece debilidad y depresión, deshidratación, estado comatoso, la auscultación cardíaca presenta alteraciones en el ritmo (taquicardia o bradicardia) debidas a la hiperpotasemia y la acidosis, la palpación abdominal presenta una vejiga muy dilatada con dolor y defensa abdominal, a veces se presenta una incontinencia paradójica de forma que el abdomen, la región perineal y la cola del animal aparecen mojadas de orina, el exámen del pene en su apertura uretral, a veces deja ver el material obstructor y todo el pene y el prepucio aparecen inflamados o traumatizados debido al excesivo lamido (Goldston,1981; Osborne,1984d; 1995; Scott,1985; Chew,1988; Lees,1989; Fernandez,1989; Gaskell,1990a).

2.6.2. Diagnóstico laboratorial.

Análisis de orina:

* No obstructivo. las únicas alteraciones laboratoriales que se observan en estos animales son las del urianálisis. La densidad de la orina está elevada, el pH de la orina es variable pero suele aparecer neutro o ligeramente ácido, aparece proteinuria ligada generalmente a la hematuria, los nitritos aparecen elevados cuando existe infección urinaria aunque el valor negativo no descarta dicha infección. En el sedimento podemos observar gran cantidad de eritrocitos y una cantidad moderada de leucocitos, cilindros granulosos y si la orina es neutra o alcalina aparecen cristales de estruvita.

* Obstrutivo.

-Hematología: Aparece un aumento del valor hematocrito y de las proteínas plasmáticas totales debido a la deshidratación, aumenta el número de leucocitos.

-Urianálisis: La densidad urinaria es variable, dependiendo del grado de afectación renal, cuando se establece una insuficiencia renal aguda post renal, la densidad descende. El sedimento presenta gran cantidad de eritrocitos, cantidad moderada a alta de leucocitos, células vesicales, cilindros granulados, cilindros hialinos y abundantes cristales de estruvita (Osborne,1984d; 1995; Scott,1985; Chew,1988; Lees,1989; Fernandez,1989; Gaskell,1990a; Kruger,1991).

2.6.3. Diagnóstico radiológico.

Las radiografías abdominales en proyección latero-lateral y oblicua nos mostrarán en caso de animales no obstruidos, la presencia de cuerpos radio opacos en la luz de la vejiga en caso de litiasis vesical, si la proyección latero-lateral se realiza en posición vertical del animal y existen gran cantidad de cristales de estruvita se podrá observar su acúmulo sobre el fondo vesical. En animales obstruidos la radiografía simple, nos mostrará una vejiga con un gran tamaño y una imagen de densidad líquido, si la radiografía se realiza en estación en la proyección latero-lateral se observará el acúmulo de cristales en las partes declives.

Radiografías de contraste. Se puede utilizar la técnica de uretrografía retrógrada y valorar el diámetro de la uretra en la imagen radiográfica (Chew,1988; Fernandez,1989; Hernanz,1989; Lavin Cunliffe,1989; Steyn,1991).

2.6.4. Diagnóstico ecográfico.

La exploración ecográfica nos dará como resultado la evaluación del grosor de la pared vesical y le presencia de acúmulos de cristales en gran cantidad (arenillas) así como, posibles anomalías en el contenido vesical (Fernandez,1989; Voros,1992; Diez Bru,1993).

2.7. Diagnóstico diferencial.

2.7.1. Infecciones.

Las infecciones producidas por microorganismos (bacterias y hongos) deben ser diagnosticadas por uricultivo y las infecciones víricas por la observación de cuerpos de inclusión en las células epiteliales del sedimento urinario, la visualización de partículas virales por medio de microscopía electrónica y detección de antígenos virales mediante técnicas inmunológicas (Osborne,1995).

2.7.2. Malformaciones congénitas.

La radiografía de contraste positivo de la vejiga y la uretra nos revelarán las posibles anomalías que pueden ser: Anomalías uracales, útero masculino persistente, fístula uretrorectal y estenosis congénita de la uretra (Chew,1988; Lees,1989; Osborne,1989; 1995; Holt,1992).

2.7.3. Urolitos vesicales.

La presencia de urolitos de gran tamaño en la uretra y la vejiga de la orina se detecta por medio de radiología simple o de doble contraste y ecografía (Fernandez,1989; Hernanz,1989).

2.7.4. Traumatismos.

El diagnóstico diferencial de los traumatismos se realiza por la anamnesis y por radiografías de contraste positivo de la vejiga y uretra (Chew,1988; Hernanz,1989).

2.7.5. Disfunciones neurológicas.

Las posibles alteraciones en la evacuación de la orina debidas a disfunciones neurológicas son: La disinergia refleja, el espasmo uretral, la hipotonía o atonía primaria o secundaria de la vejiga de la orina (Chew,1988; Brown,1989; Osborne,1995).

2.8. Tratamiento.

2.8.1. Profilaxis.

La prevención de la urolitiasis por estruvita en el gato es compleja. Un gran número de factores intervienen en la aparición de la enfermedad.

La suficiente ingestión de agua de bebida, el aumento en el ejercicio de los animales, la alimentación "ad libitum" evitando una hora fija de alimentación y el libre acceso, en todo momento, del animal a su bandeja de deyecciones para facilitar el vaciado frecuente de la vejiga de la orina, son algunas de las prácticas sencillas que cualquier propietario puede realizar para prevenir la aparición de la urolitiasis. Es importante que la composición química de los alimentos facilite la producción de una orina con un pH ligeramente ácido. El contenido en aminoácidos azufrados de la dieta así como formas moleculares que en su hidrólisis produzcan radicales que acidifiquen ligeramente la orina es muy importante para la prevención de la enfermedad. La adición de acidificantes urinarios como rutina no es muy recomendable por la posible aparición de acidosis metabólica (Gaskell,1989; Ross,1990; Wolter,1990; Finke,1992).

2.8.2. Tratamiento médico.

- Animales no obstruidos. Un 70 % de estos animales se recuperan espontaneamente.

Los medicamentos miorrelajantes y antiespasmódicos pueden tener un efecto positivo

sobre la disminución del calibre uretral.

Los antibióticos aplicados como terapia específica no tienen efecto sobre esta alteración (Ross, 1990).

- Animales obstruidos. El primer objetivo del tratamiento de los animales con obstrucción uretral es la permeabilización de la uretra y la eliminación de la retención urinaria. Si es necesaria la aplicación de anestésicos, para proceder al sondaje uretral, la dosis de estos debe reducirse. El sondaje uretral puede ser necesario en caso de que las maniobras de movilización digital del tapón uretral no den resultado. El sondaje uretral se intentará utilizando catéteres específicos para el sondaje de gatos. En cualquier caso las maniobras para introducir la sonda se realizarán con una extremada delicadeza para evitar grandes daños en el epitelio uretral. Para introducir la sonda en la uretra es necesario sujetar con una mano el pene extrayéndolo del prepucio, se introduce el cateter y al atravesar la uretra penéana se cambia la dirección de este intentando situarlo paralelo al raquis de forma que podamos superar la flexura pélvica, el final de la cateterización será aquel momento en el que por la sonda salga de forma fluida la orina.

Si el sondaje uretral no es posible, por encontrarnos con zonas de alta resistencia, debemos desistir de él y utilizar métodos alternativos. Se puede utilizar el lavado retrógrado de la uretra inyectando con cierta presión solución salina fisiológica a través de una sonda lagrimal intentando retirar con este líquido el tapón uretral. Si esta técnica tampoco da resultado procederemos al vaciado de la vejiga para eliminar su presión por medio de cistocentesis transabdominal por la línea alba utilizando agujas de 40 mm. de longitud.

El segundo objetivo a conseguir, una vez eliminada la obstrucción uretral, será restablecer el equilibrio electrolítico del animal. El mejor método es colocar un catéter intravenoso yugular aplicando una solución de Ringer lactato para corregir la deshidratación. El tratamiento de la acidosis metabólica se realiza con la inyección de bicarbonato sódico intravenoso en dosis de 1 a 2 mEq./kg. El volumen en mililitros de la solución de Ringer lactato necesario se calcula multiplicando el peso en kilogramos por el porcentaje de

deshidratación por quinientos. Después de una retención urinaria que haya durado unas cuantas horas, solucionada la retención, se establecerá una diuresis post obstructiva que durará de 24 a 48 horas. Durante este tiempo aparece una hipokalemia, cuando los niveles de potasio se encuentran por debajo del valor normal (3.5 mEq./l.) se debe añadir cloruro potásico a la solución intravenosa. La cantidad de ClK depende de la intensidad de la hipokalemia. Los valores de la urea y la creatinina séricas que en principio se encuentran muy elevados, deben volver a la normalidad a las 24 horas del establecimiento de la diuresis de la insuficiencia renal aguda postrenal.

El nivel de recidivas de la obstrucción en el primer año se cifra en un 30 por ciento (Jackson,1976; Finco,1977; Burrows,1978; Barsanti,1984; 1992; Lees,1984; Osborne,1984c; 1990a; Scott,1985; Browning,1987; Chew,1988; Fernandez,1989; Mawby,1989; Gaskell,1990b; Ross,1990; Philip,1990; Lulich,1992; 1993).

2.8.3. Tratamiento nutricional.

La disolución de los cristales de estruvita y de los urolitos, la disminución de los niveles de magnesio y el mantenimiento de una orina ácida son los tres objetivos que ayudarán a evitar las recidivas de la enfermedad.

La utilización de dietas comerciales de prescripción, específicas contra la urolitiasis, cumple los tres objetivos citados, y en los estudios realizados, se ha comprobado que el tanto por ciento de recidivas cae espectacularmente cuando el control nutricional, posterior al episodio obstructivo, es cumplido estrictamente (Sherding,1977; Tarttelin,1987a).

La dieta empleada, además, debe poseer un alto contenido en cloruro sódico ($\text{ClNa} = 0.8 \%$ sobre materia seca) para estimular el aumento del consumo de agua.

La utilización de sustancias que reducen el pH urinario ha sido descrita en múltiples artículos que hacen referencia a: Cloruro amónico, dihidrocloruro de etiléndiamina y metionina (Durham,1983; Lloyd,1984; Taton,1984; Lewis,1984a; 1985; Senior,1986;

Finco,1987; Fertig,1987; Osborne,1989; 1990b; Girardi,1990; Hall Patch,1990; Moser,1990; Buffington,1990; 1992a; Barragry,1992).

2.8.4. Tratamiento quirúrgico.

En caso de recidivas de la enfermedad o ante la imposibilidad de la desobstrucción de la uretra se debe considerar como alternativa el tratamiento quirúrgico. La técnica más empleada en la actualidad es la uretrotomía perineal. Esta técnica quirúrgica tratará de evitar las posibles obstrucciones posteriores. Los inconvenientes de esta técnica son las frecuentes complicaciones como por ejemplo infecciones del tracto urinario, incontinencia urinaria, hematuria, etc. (Skelcher,1978; Barsanti,1984; Lees,1984; Scott,1984; Chew,1988; Fernandez,1989; Kramer,1989; Bojrab,1990; Gaskell,1990a; Ross,1990; Osborne,1991; Griffin,1992).

3. Objetivos

3. Objetivos.

- Profundizar en el conocimiento de las alteraciones urinarias relacionadas con la micción en el gato.
- La puesta a punto de las diferentes técnicas que se aplican en el diagnóstico de la enfermedad de los gatos conocida como FUS.
- El establecimiento de los valores normales de glicoproteínas en la orina de gatos sanos.
- Producción experimental del FUS en gatos sometidos a dietas especiales lo que provoca la instauración de una cristaluria por estruvita continuada y duradera en los animales problema.
- Valoración de los niveles de glicoproteínas en orina, y su relación con el tiempo de cristaluria.
- Estudio morfológico de los cristales de estruvita.
- Cuantificación de las proteínas totales en muestras de orina de 24 h.
- Estudio histológico microscópico y ultraestructural de las células productoras de glicoproteínas en la uretra del gato.

4. Plan de trabajo

4. Plan de trabajo.

A.- La formación de un grupo de animales con las características homogéneas necesarias para la realización del estudio.

B.- El diseño de la instalación para alojar al grupo de animales y que posibilitará la recogida de muestras en unas condiciones óptimas.

C.- La recopilación y puesta a punto de las técnicas de diagnóstico clínico y laboratorial que hagan posible el control de la alteración que posteriormente provocaremos.

D.- La administración al grupo de animales problema de dieta alcalinizante de orina. Control de la cristaluria.

E.- Recogida y procesado de las muestras en los diferentes tiempos de la cristaluria.

F.- Fabricación de cristales de estruvita en el laboratorio y comparación morfológica de estos con cristales naturales procedentes de orina, asociando las diferentes morfologías con el pH.

G.- Recogida y procesado de las muestras de tejidos y órganos de aparato urinario procedentes de cadáveres de la sala de necropsias de la Facultad de Veterinaria de Madrid y de las clínicas colaboradoras.

5. Material y Métodos

5. Material y métodos.

5.1. Animales del estudio.

5.1.1. Descripción de los animales.

El grupo de animales de la experiencia se formó con diez gatos (**Felis catus**) de raza europeo común, machos, que proceden, dos de ellos del criadero de animales de experimentación IFFA CREDO S.A. con los números de identificación 4285P y 4352P tatuados en la oreja izquierda. Otros tres del criadero de animales de experimentación BIOCENTRE S.A. con los números de identificación E75, E77 y E79 tatuados en la oreja izquierda y cinco animales criados para la experiencia por nosotros con la identificación A1, A2, A3, A4 y A5.

Este grupo se dividió en dos animales control (A2 y A3) y ocho problema (A1, A4, A5, E75, E77, E79, 4245P, 4352P).

En el momento de la formación del grupo de animales los pesos medios de estos eran de 1,350 gr.

5.1.2. Controles previos de los animales.

Se realizó una primera desparasitación, utilizando como medicamento destinado a la eliminación de nematodos, Pamoato de pirantel (Canex [®]) y como medicamento específico contra cestodos, Praziquantel (Droncit [®]).

Se procedió a la vacunación de los animales utilizando la vacuna de panleucopenia felina, rinotraqueitis infecciosa felina y calicivirus (Felocell CVR [®]) de los laboratorios Norden aplicada en dos dosis con un intervalo de un mes entre ambas.

La alimentación de todos los animales del grupo se efectuó con el pienso comercial de la marca Friskies, aportados por Friskies España, en todos ellos.

Cuando los animales alcanzaron los 2.500 gr. de peso comenzó la experiencia.

Los controles realizados en el punto de partida del experimento fueron:

- Análisis sistemático de sangre:

Los valores aquí reflejados son la media de cada uno de ellos en el punto de partida de la experiencia.

* Hematocrito 53,4 %

* Eritrocitos 12.640.000 eri/ μ l.

* Leucocitos 12.350 leu/ μ l.

Fórmula leucocitaria:

Neutrófilos 37.

Linfocitos 57.

Eosinófilos 4.

Monocitos 1.

* Hemoglobina 16,86 g/dl.

* Proteínas totales 8,1 g/dl.

* Glucosa 90,6 mg/dl.

* Urea 44,18 mg/dl.

* Creatinina 1,5 mg/dl.

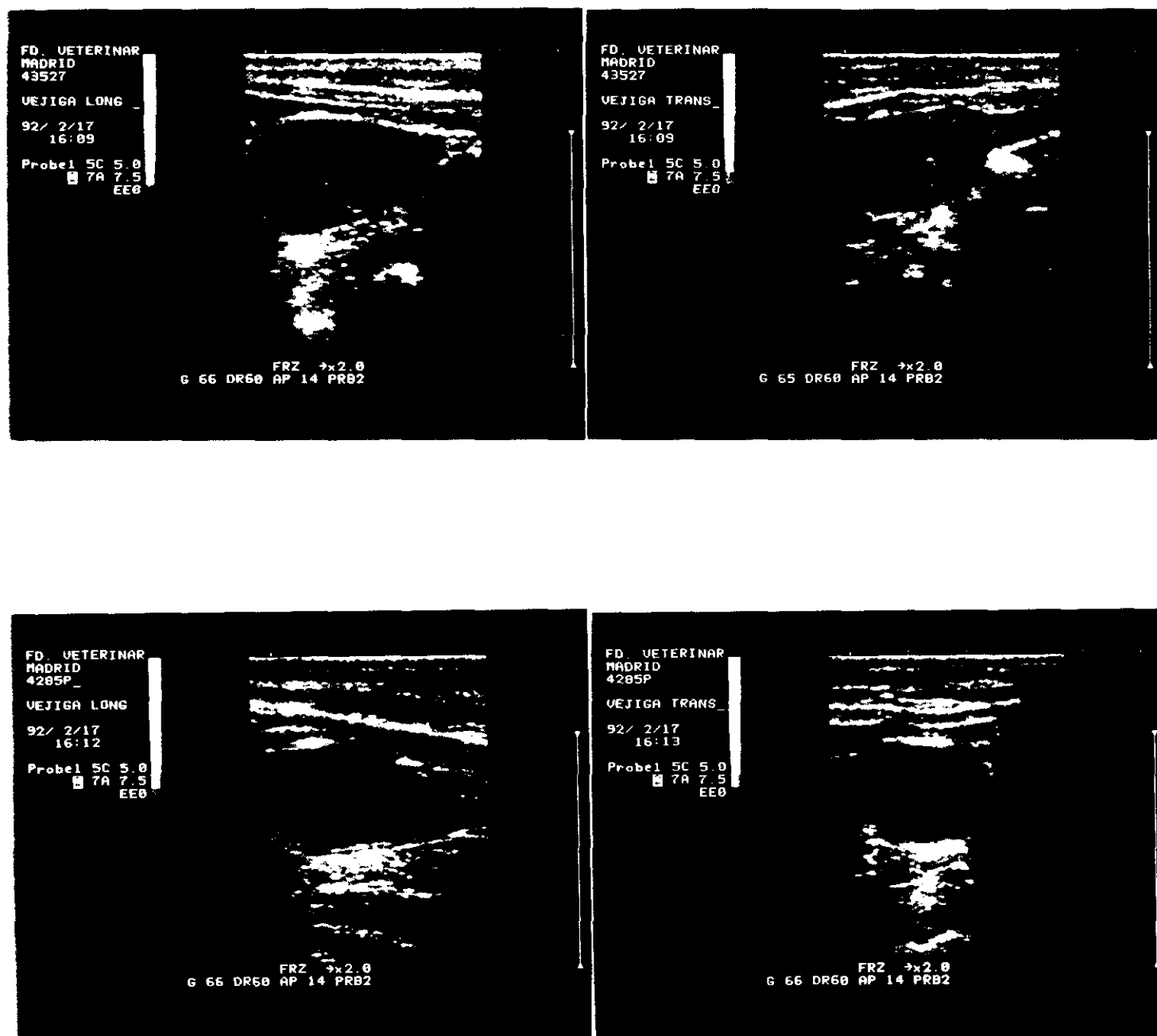
* GPT 25 UI/dl.

- Análisis de orina:

Todos los análisis previos, realizados sobre la orina de los animales de la experiencia, dieron como resultado, unos valores normales. Los parámetros valorados fueron: nitritos, proteínas, cuerpos cetónicos, pH, glucosa, bilirrubina, hemoglobina-eritrocitos, densidad y sedimento.

- Control ecográfico del aparato urinario.

Las imágenes ecográficas, obtenidas en sección longitudinal y transversal de la vejiga de la orina de cada uno de los animales, corresponden a aparatos urinarios sin anomalías. Dichas imágenes son reproducidas a continuación.



FD. VETERINAR
MADRID
ATON
VEJIGA LONG
92/ 2/17
16:43
Probel SC 5.0
7A 7.5
EE0

G 74 DR60

FD. VETERINAR
MADRID
ATON
VEJIGA TRANS
92/ 2/17
16:43
Probel SC 5.0
7A 7.5
EE0

G 74 DR60 AP 14

FD. VETERINAR
MADRID
TIMIDO
VEJIGA LONG
92/ 2/17
16:49
Probel SC 5.0
7A 7.5
EE0

FRZ $\times 2.8$
G 74 DR60 AP 14 PR82

FD. VETERINAR
MADRID
TIMIDO
VEJIGA TRANS
92/ 2/17
16:49
Probel SC 5.0
7A 7.5
EE0

FRZ $\times 2.8$
G 74 DR60 AP 14 PR82

FD. VETERINAR
MADRID
GRIS
VEJIGA LONG
92/ 2/17
16:36
Probel SC 5.0
7A 7.5
EE0

FRZ $\times 2.8$
G 74 DR60 AP 14 PR82

FD. VETERINAR
MADRID
GRIS
VEJIGA TRANS
92/ 2/17
16:37
Probel SC 5.0
7A 7.5
EE0

FRZ $\times 2.8$
G 74 DR60 AP 14 PR82

FD. VETERINAR
MADRID
MOUDINI

VEJIGA LONG

92/ 2/17
16:34

Probel 5C 5.0
7A 7.5
EE0



G 74 DR60

FD. VETERINAR
MADRID
MOUDINI

VEJIGA TRANS

92/ 2/17
16:34

Probel 5C 5.0
7A 7.5
EE0



G 74 DR60

FD. VETERINAR
MADRID
RUBIO

VEJIGA LONG

92/ 2/17
16:46

Probel 5C 5.0
7A 7.5
EE0



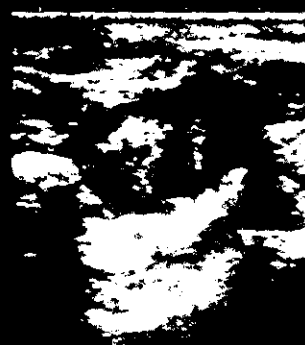
FRZ $\times 2.0$
G 74 DR60 AP 14 PRB2

FD. VETERINAR
MADRID
RUBIO

VEJIGA TRANS

92/ 2/17
16:46

Probel 5C 5.0
7A 7.5
EE0



FRZ $\times 2.0$
G 74 DR60 AP 14 PRB2

FD. VETERINAR
MADRID
E75

VEJIGA LONG

92/ 2/17
16:23

Probel 5C 5.0
7A 7.5
EE0



FRZ $\times 2.0$
G 68 DR60 AP 14 PRB2

FD. VETERINAR
MADRID
E75

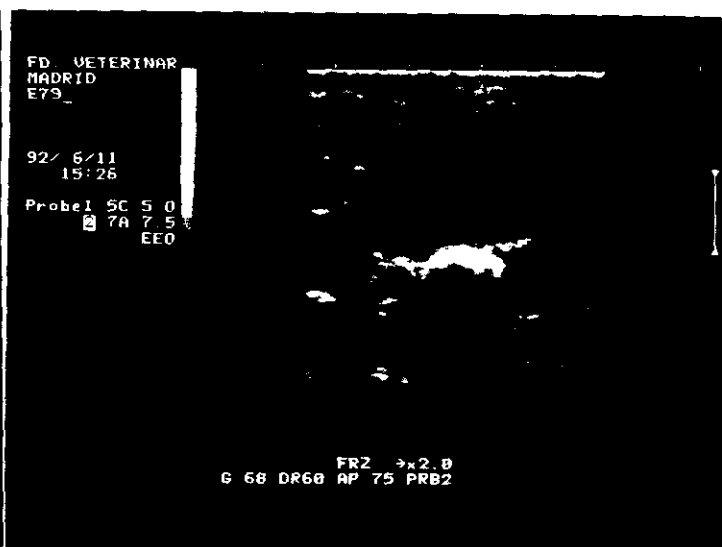
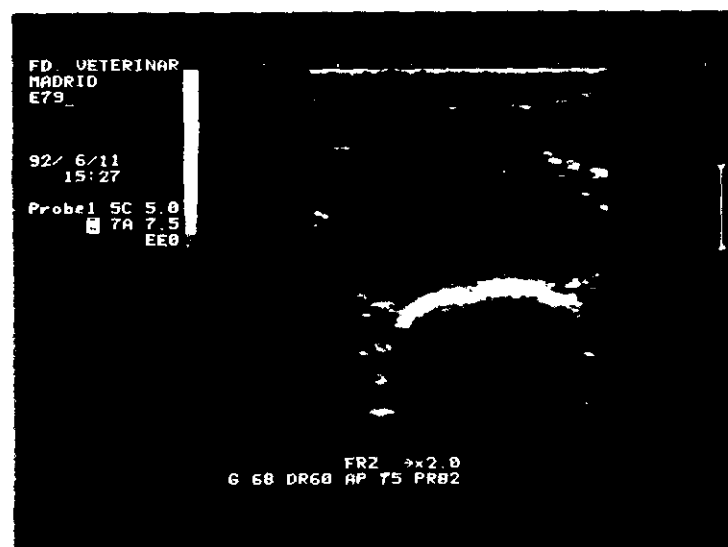
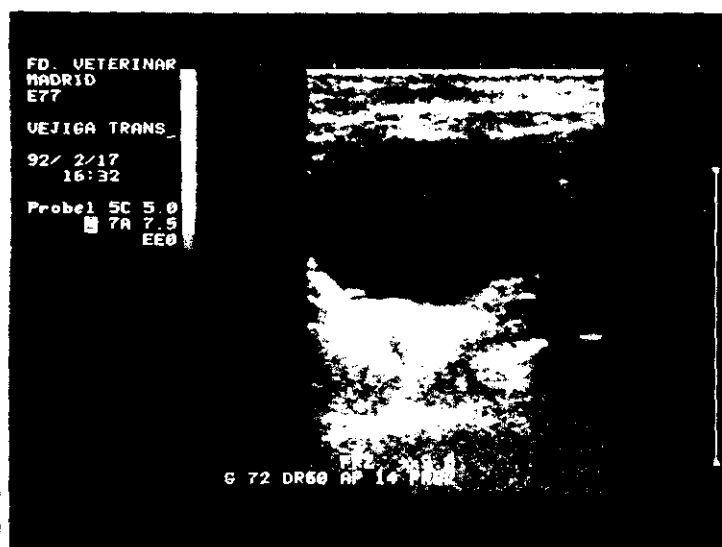
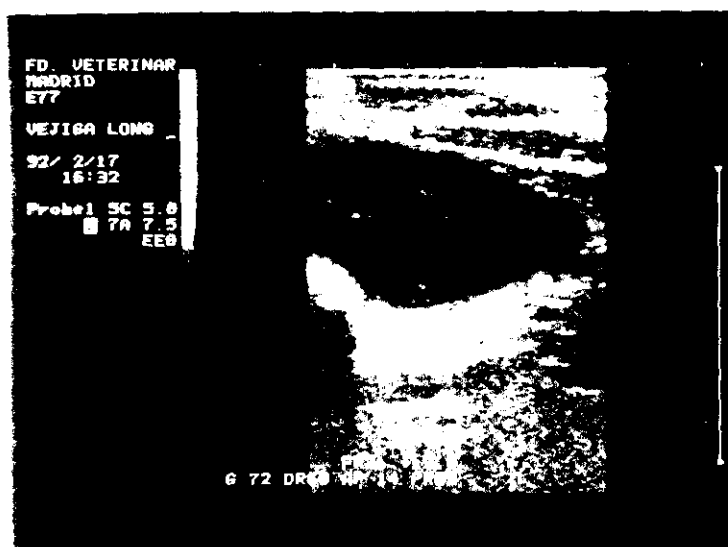
VEJIGA TRANS

92/ 2/17
16:24

Probel 5C 5.0
7A 7.5
EE0



FRZ $\times 2.0$
G 68 DR60 AP 14 PRB2



5.1.3. Descripción de la instalación.

Los animales se alojaron en diez jaulas metabólicas individuales fabricadas, íntegramente, en acero inoxidable, dotadas de comedero, bebedero, rejilla y bandeja colectora con filtro. Se dotó a cada jaula de un sistema de recogida de orina de material plástico (polietileno y cloruro de polivinilo).

Las medidas de cada una de las jaulas son:

- Altura 830 mm.
- Profundidad 750 mm.
- Anchura 790 mm.

Cada jaula dispone de una repisa de descanso de material plástico lavable.

El conjunto de las diez jaulas se dispuso en batería de dos filas de cinco jaulas superpuestas.



Fig. 5.1.3. Vista parcial de la instalación que aloja a los gatos.

5.1.4. Descripción de la alimentación.

5.1.4.1. Alimentación de gatos control.

Se utilizó en todo momento pienso comercial, suministrado "ad libitum". El resultado del análisis de este pienso es:

Humedad	7,5 %
Proteínas	32,0 %
Grasa	23,5 %
Fibra	1,6 %
Cenizas	4,7 %
Calcio	0,80 %
Fósforo	0.70 %
Sodio	0,34 %
Potasio	0.68 %
Magnesio	0,05 %
Cobre	21 mg/Kg.
Vitamina A	14950 U.I./Kg.
Vitamina D3	1480 U.I./Kg.
Vitamina E330 U.I./Kg.

5.1.4.2. Alimentación de gatos problema 1 (Primera experiencia).

Se utilizó una partida de pienso alcalinizante de orina, fabricado especialmente para la experiencia por la firma Westreco***. La alimentación en todos los casos se proporcionó "ad libitum".

La fórmula de este pienso era:

Base de la croqueta:

Granos de cereales	50,0 %
Harinas de proteína animal	29,7 %
Aditivos	3,1 %

Recubrimiento:

Base seca	92,2 %
Digest/grasa	7,8 %

El resultado del análisis nutricional de este pienso fué el siguiente:

Humedad.	8,12 %
Proteínas	30,13 %
Grasa	14,44 %
Fibra	2,00 %
Cenizas	11,88 %
Energía bruta	3,88 Kcal/gr.
Energía metabolizable	3,35 Kcal/gr.
Calcio	3810 mg/100 gr.
Fósforo	1915 mg/100 gr.
Potasio	436,50 mg/100 gr.
Sodio	314,50 mg/100 gr.
Cloro	589,10 mg/100 gr.
Magnesio	140,50 mg/100 gr.
Hierro	47,85 mg/100 gr.
Cobre	1,48 mg/100 gr.
Manganeso	3,22 mg/100 gr.
Zinc	13,35 mg/100 gr.
Metionina	0.55 %

5.1.4.3. Alimentación de gatos problema 2 (Segunda experiencia).

Los valores del análisis nutricional del segundo pienso utilizado fueron:

Humedad	5,6 %
Proteínas	30,1 %
Grasa	11,9 %
Cenizas	13,6 %
Fibra bruta	1,6 %
Energía metabolizable	3,37 Kcal/gr.
Calcio	4,370 %
Fósforo	2,310 %
Potasio	0,400 %
Sodio	0,300 %
Cloro	0,250 %
Magnesio	0,147 %
Metionina	0,450 %

5.1.5. Muestras uretrales procedentes de necropsias.

5.2. Material técnico y reactivos.

5.2.1. Material de laboratorio.

- Espectrofotómetro Beckman DU-20 ®.
- Cubetas de vidrio para espectrofotómetro Starna 9G ®.
- Espectrómetro de refracción Reflotrón ® Boehringer Mannheim.
- Centrifuga Janetzki T-30 ®.
- Baño termostatzado con agitación Selecta unitronic 320 ®.
- Baño termostatzado Pacisa.
- Alimentador para electroforesis Atom 502 ®.

- Agitador orbital Atom 80 ®.
- Fotodensitómetro Atom 430 digiscan ®.
- 2 Medidores de pH Crison micro pH 2002 ®.
- Agitador Nedtex super mixer ®.
- Balanza Sauter monopan ®.
- Pipetas automáticas Gilson P200 y P1000 ®.
- Concentrador de proteínas en líquidos biológicos Atom 110 ®.
- Bomba de vacío Millipore ®.
- Refractómetro clínico Atago ®.
- Microscopio Leitz ®.
- Ultramicrotomo III LKB Tipo 8802A ®.
- Microscopio electrónico de transmisión Jeol 100B ®.
- Unidad de secado mediante la técnica de punto crítico Balzers CPD-030 ®.
- Equipo de pulverización catódica "Sputtering" Balzers SCD-004 ®.
- Microscopio electrónico de barrido Jeol JSM 6400 ®.

5.2.2. Reactivos.

5.2.2.1. Determinación de creatinina.

- Tiras de Creatinin Reflotrón ®

5.2.2.2. Determinación de proteínas urinarias.

-Solución base de Ponceau S. Disolver 40 gr. de colorante Ponceau S en 1l. de agua destilada.

-Reactivo concentrado de tricloroacético - Ponceau S. A 20 ml. de la solución base de Ponceau S se le adiciona una solución de ácido tricloroacético (300 gr./l.) hasta completar un litro.

-Reactivo de trabajo tricloroacético - Ponceau S. A 100ml. del reactivo concentrado de tricloroacético - Ponceau S se le añade agua destilada hasta completar un litro. Esta solución es estable durante varios meses a temperatura ambiente.

-Solución diluida de hidróxido sódico 8 gr./l.

-Solución estandar de proteínas. Albúmina bovina en solución salina fisiológica 160 mg./dl.

5.2.2.3. Curva patrón de siálico.

-Acido N-acetil neuramínico 100 μ g./ml.

5.2.2.4. Determinación de siálico.

-Acido sulfúrico 1 N.

-Acido periódico 27 mM. en ácido sulfúrico 0,125 N. (pH 1,2).

-Meta arsenito sódico 20 gr./l. en ácido clorhídrico 0,5 N.

-Acido 2-thiobarbitúrico 0,1 M.

-Butanol-clorhídrico. 950 ml. de butanol + 50 ml. de ácido clorhídrico 5N.

5.2.2.5. Valoración de fucosa.

-Acido sulfúrico. 6 volúmenes de ácido sulfúrico + 1 volumen de agua destilada.

-Cisteína 3 %.

-Fucosa 10 $\mu\text{g.}/\text{ml.}$

5.2.2.6. Electroforesis en tira de celulosa.

-Tiras de celulosa para electroforesis (Cellologel [®]).

-Tampón Veronal sódico 0,04 M - Dietilbarbiturato sódico 8,24 gr./l.

-Colorante negro amido 10B. 0,5 gr. en 45 ml. de metanol + 45 ml. de agua destilada + 10 ml. de ácido acético.

-Decolorante negro amido 10B. 47,5 ml. de metanol + 47,5 ml. de agua destilada + 5 ml. de ácido acético.

-Solución transparentizadora A y B. A: 870 ml. de metanol + 30 ml. de ciclohexanona. B: 100 ml. de ácido acético. Mezclar 9 partes de A y una de B.

-Solución disolvente. Acido acético 80 %.

5.2.2.7. Formación de cristales de estruvita.

-Cloruro magnésico ($\text{Cl}_2\text{Mg} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) 110 gr./l.

-Cloruro amónico (ClNH_4) 200 gr./l.

A 50 ml. de la solución anterior se le añaden 2 gr. de fosfato monosódico ($\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na}$). De esta forma se obtiene la solución madre de fosfato amónico magnésico (Estruvita).

-Tampón fosfato 0,2 M.

5.2.2.8. Tinciones para microscopía óptica.

Se utilizaron técnicas convencionales de rutina. Hematoxilina-eosina y P.A.S.

5.2.2.9. Microscopía electrónica.

-Tampón Milloning pH 7,3:

*Fosfato monosódico 22,6 gr./l. en agua destilada.

*Hidróxido sódico 25,2 gr./l. en agua destilada.

*Glucosa 54 gr./l en agua destilada.

*Cloruro cálcico 100 gr./l. en agua destilada.

-Glutaraldehído al 25 % .

-Tetróxido de osmio al 2 % .

-Etanol 30 %, 50 %, 75 %, 90 %, 95 % y absoluto.

-Óxido de propileno.

-Mezcla de inclusión Epon-Araldita Mollenhauer.

- Acetato de uranilo al 2 % en agua destilada.
- Citrato de plomo según Edward S. Reynolds.

5.3. Métodos.

5.3.1. Urianálisis.

5.3.1.1. Sedimento urinario.

Método para la valoración del sedimento urinario.

En un tubo de vidrio, de fondo cónico, para centrífuga se depositan 5 ml. de orina, se centrifuga a 1.500 r.p.m. durante 5 minutos, se desechan 4,5 ml. del sobrenadante, se agita el sedimento con los 0,5 ml. restantes y se añade una gota de Sedistain ®.

Se deposita una gota sobre un portaobjetos y se cubre con un cubreobjetos.

Se observa al microscopio a 100 aumentos y a 400 aumentos.

5.3.1.2. Densidad urinaria.

Método para la determinación de la densidad de la orina.

Depositamos dos gotas de orina en un refractómetro clínico y realizamos una lectura directa de la densidad en la escala. El valor se obtiene en g/ml.

5.3.1.3. Creatinina.

Determinación de creatinina en orina.

Se utiliza una técnica de química seca (Reflotron ® Creatinin).

Bajo la acción de la creatinina-aminohidrolasa (Creatininasa), la creatinina se hidroliza a creatina. La creatina es desdoblada en sarcosina y urea por la creatinamidinohidrolasa (Creatinasa). La sarcosina pasa a glicina, formaldehído y peróxido de hidrógeno por la acción de la sarcosinoxidasa. La peroxidasa oxida los componentes N-metil-N-fosfono-metilenanilina y 2-hidrazono-2,3-dihidro-3-metil-6-sulfobenzotiazol a un colorante violeta que es identificable en el intervalo de medición.

Mediante una determinación a punto final a 567 nm. se mide la reflexión que ha disminuido proporcionalmente frente a la concentración original de la creatinina. (Según Boehringer Mannheim).

La muestra de orina completa se diluye 1:101 con agua destilada, 32 ul. de la dilución se depositan sobre la zona correspondiente de la tira reactiva, se introduce dicha tira en el aparato de lectura (Reflotrón®). La lectura obtenida se expresa en mg./dl., debiéndose multiplicar el resultado obtenido por 101.

5.3.2. Método de preparación de las muestras para la determinación de las proteínas y siálico.

Se utilizan columnas de un solo uso de Sephadex® G25 de la firma Pharmacia. Antes de la introducción de la muestra se lava la columna, eluyendo 50 ml. de solución salina fisiológica (ClNa 9 gr./litro), se añaden 2,5 ml. de orina y se espera hasta la total introducción de la muestra en el Sephadex, se añade solución salina fisiológica. Los primeros 3 ml. que salen después de la adición de la muestra se desechan y se recogen los 3,5 ml. siguientes que constituirán la muestra, en la que se valorarán proteínas y siálico. Por la dilución de la muestra en los cálculos finales habrá que multiplicar por el factor $f = 1'4$.

5.3.3. Proteínas urinarias.

Determinación de proteínas urinarias. Técnica del rojo Ponceau.

La muestra de orina se mezcla con una solución de ácido tricloroacético - Ponceau S. Las proteínas de la orina precipitan junto con una cantidad proporcional de colorante. El precipitado rojo formado se disuelve en una solución diluida de NaOH, produciéndose una coloración violácea del conjunto. Esta coloración, que es proporcionalmente lineal a la cantidad de proteína presente, se valora espectrofotométricamente a 560 nm. Los límites de linealidad del método son de 10 mg./dl. hasta 150 mg./dl.

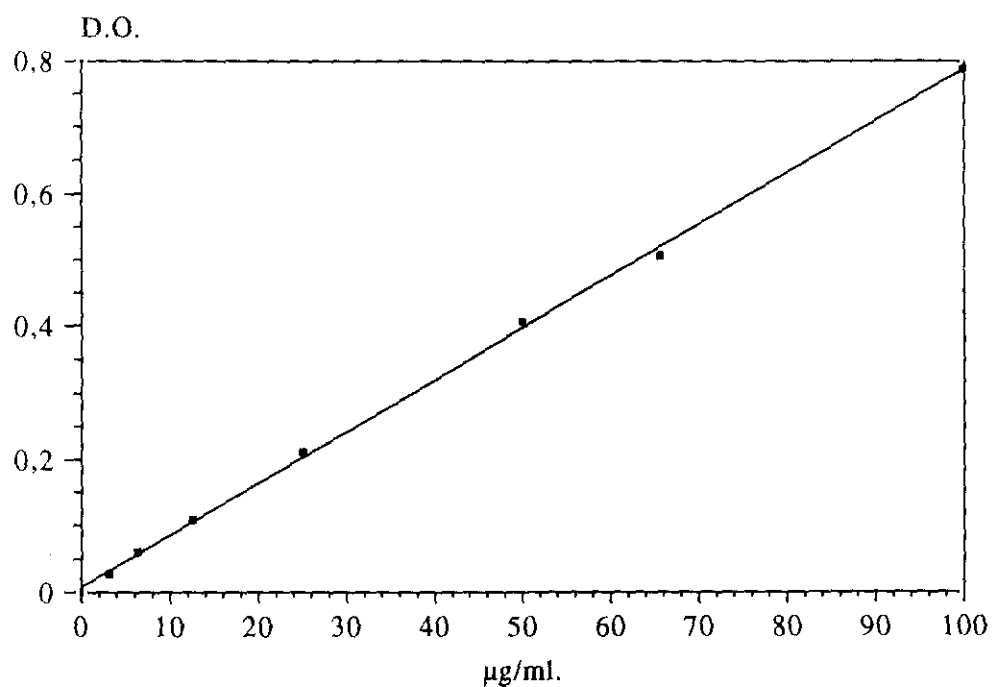
Protocolo: A un tubo de vidrio de fondo cónico se le añaden 0,2 ml. de la muestra, a continuación se agregan 2 ml. de reactivo tricloroacético-rojo Ponceau, se mezcla enérgicamente y se centrifuga a 3500 rpm. durante 10 minutos. Se elimina completamente el sobrenadante y se invierten los tubos sobre un papel secante. Al precipitado rojo se le adicionan 4 ml. de NaOH (8 gr./l.). Se realiza la lectura a 560 nm. frente a agua destilada.

5.3.4. Método para la determinación de siálico.

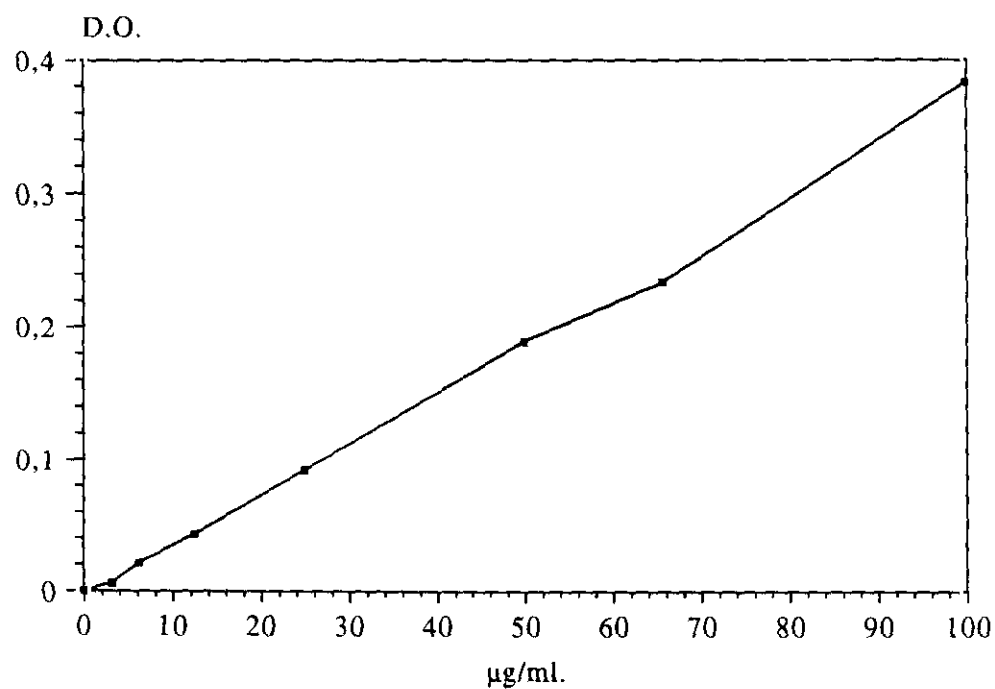
Método cuantitativo de valoración de ácido N-acetil neuramínico según D.Aminoff. Se prepara un tubo, como blanco de la reacción, al que se le añaden 0,45 ml. de agua destilada, cada una de las muestras a analizar, se deposita en dos tubos diferentes cada uno de ellos conteniendo 0,45 ml. Al blanco y al primero de estos tubos, que constituirá la "muestra no hidrolizada", se les añaden 0,05 ml. de agua destilada, al segundo tubo de muestra se le añaden 0,05 ml. de ácido sulfúrico 1N y se le deposita en un baño maría a 80°C durante una hora. Pasado este tiempo este tubo será el de "muestra hidrolizada". Se reúnen las dos series de tubos y se añade a cada uno de ellos 0,25 ml. de periodato. Se incuban en un baño a 37°C durante treinta minutos. Se añade a cada uno de los tubos 0,2 ml. de arsenito y se observa en el momento de la adición una intensa coloración amarilla del conjunto. Esta coloración debe desaparecer en dos minutos. A continuación se añaden 2 ml. de ácido thiobarbitúrico y se llevan los tubos a un baño de ebullición durante 7,5 minutos.

Posteriormente, se enfrian los tubos en un baño de agua con hielo y se añaden 5 ml. de butanol-clorhídrico, se agita enérgicamente cada tubo y se centrifugan a baja velocidad (500 rpm.) durante 5 minutos. El sobrenadante se extrae y se deposita en una cubeta de vidrio para su lectura en el espectrofotómetro a 549 nm.

CURVA PATRON DE ACIDO N-ACETIL NEURAMINICO 549 nm.



CURVA PATRON DE ACIDO N-ACETIL NEURAMINICO 532 nm.



5.3.5. Determinación de fucosa.

Para la determinación del contenido de fucosa en la muestra se prepara un tubo "blanco" conteniendo 1 ml. de agua destilada. También se prepara un tubo "estandar" al que se le añade 1 ml. de solución de fucosa y dos tubos por cada muestra "problema" a los que se le añade 1 ml. de muestra (orina pasada por la columna de Sephadex[®] G25). A todos los tubos se les añade 4,5 ml. de ácido sulfúrico y se agita enérgicamente. Se deja reposar los tubos durante unos minutos y a continuación se introducen en un baño de agua en ebullición durante 3 minutos. Se enfrian con un baño de hielo a temperatura ambiente. Se añade a los tubos "blanco", "estandar" y "problema 2" 0,1 ml. de cisteína. Al tubo "problema 1" se le añade 0,1 ml. de agua destilada. Los tubos que se utilizan en esta reacción deben ser resistentes al calor y poseer un tapón hermético. Se realizan las lecturas en el espectrofotómetro a 396 nm. y a 427 nm. (Dische, 1948).

5.3.6. Electroforesis en tira de celulosa.

Para realizar la electroforesis partimos de una muestra de orina tratada por el método descrito en 3.3.2. pasando tres volúmenes de la misma orina y juntando estos volúmenes para conseguir una mayor cantidad de proteínas. A continuación debemos concentrar esta muestra, utilizamos el sistema de concentración con bomba de vacío y membrana Atom 110[®] para proteínas en líquidos biológicos, la presión de la bomba de vacío se debe mantener en 700 mm de Hg, el volumen final después de la concentración debe ser de 1/10 del volumen inicial. Si partimos de tres volúmenes a la salida de la columna (3 x 3,5 ml. = 10,5 ml.), debemos llegar a un volumen final de 1 ml. Este concentrado es el que utilizaremos en el punto de aplicación de la tira de celulosa.

Sumergir las tiras en el tampón durante 15 minutos como mínimo. El tampón debe estar en exceso (aproximadamente 150 ml. para tres tiras).

Sacar las tiras del tampón y absorber el exceso entre dos hojas de papel de filtro.

Observar que la cara absorbente de las tiras está situada hacia arriba y montar las tiras sobre el puente. Las proteínas deben correr de - a + . Conectar la fuente de alimentación y ajustar la diferencia de potencial a 200 V., dejando pasar la corriente durante 30 minutos. Desconectar el alimentador y la cubeta.

Sumergir la tira en el colorante con su cara permeable y mantenerlas así durante 5 minutos.

Decolorar, deshidratar y transparentizar con un baño de decolorante (A+B) en agitación continua. Cuando el fondo de las tiras quede de color blanco, colocarlas sobre una placa de vidrio, eliminando las burbujas de aire con un rodillo para completar la transparentización.

Leer en el fotodensitómetro (Atom 430 ®).

5.3.7. Cristalización de la estruvita.

Se preparan tubos con tampón fosfato 0,2 M a pH 7, 7'5 y 8 y una solución de fosfato ajustada a pH 8'5, 9 y 9'5 con hidróxido sódico 0'2 M.

Se añade 0'1 ml. de solución de estruvita y se dejan reposar los tubos durante 30 min. Se centrifugan a 1.500 r.p.m. durante 5 minutos. Con una pipeta Pasteur se recogen los cristales y se depositan en un portaobjetos cubriéndose a continuación con un cubreobjetos. La observación al microscopio se realiza a 100 y a 400 aumentos.

5.3.8. Microscopía óptica.

Se tomaron muestras de las diferentes partes de la uretra de animales que llegaron a la sala de necropsias sin alteración urinaria, fueron fijadas para Microscopía óptica en formol tamponado, incluidas en parafina, cortadas a 3-4 micras y teñidas con Hematoxilina-Eosina y PAS.

5.3.9. Microscopía electrónica.

Para la observación de las muestras en microscopía electrónica (transmisión y barrido) se fijaron en glutaraldehído al 2'5 % en buffer Milloning pH 7'3 siguiendo en cada caso las pautas convencionales descritas en el tratado de Robards 1993.

5.3.10. Métodos de análisis estadístico.

Para el tratamiento estadístico de los datos obtenidos en el presente trabajo, hemos utilizado el programa informático Sigma ® fabricado por la empresa Horus Hardware.

6. Resultados

6. Resultados.

6.0. Determinación de fucosa en muestras de orina.

Al realizar las lecturas a 532 nm., de la reacción de determinación de siálico, comprobamos que muchos de los valores, obtenidos al restar las densidades ópticas de los tubos "sin hidrolizar" a los valores de tubos "hidrolizados", eran negativos, es decir, la densidad óptica del tubo "sin hidrolizar" era mayor que la de la misma muestra "hidrolizada". El fundamento de realizar lecturas a 532 nm. es la eliminación de los valores de fucosa en las muestras de ácido siálico. Hicimos determinaciones de fucosa para saber si en nuestras muestras se encontraba dicha molécula. El valor de densidad óptica para los tubos estándar fué de 0'392 y la concentración de fucosa en la solución estandar era de 10 μ g./ml. Los valores para los tubos problema fueron de -0'01, 0'023 y 0'006. Demostrándose que en nuestras muestras no existen cantidades apreciables de fucosa y por tanto podemos eliminar las lecturas a 532 nm. de la determinación de siálico (Dische, 1948).

6.1. Animales control.

Los gatos numerados como A2 y A3 han sido utilizados como animales control a lo largo de toda la experiencia. Estos dos gatos fueron mantenidos en perfecto estado sanitario, con las condiciones de manejo y alimentación indicados en el capítulo 5.2. Material. Tras el examen previo, se procedió a su control periódico clínico y biopatológico con el fin de garantizar un buen estado sanitario y la obtención de valores de referencia para los parámetros biopatológicos de nuestro estudio.

Con el fin de otorgar la mayor similitud a las circunstancias, características y manejo de las muestras de los grupos control y problema, han sido utilizados para el cálculo de estos valores de referencia los resultados obtenidos en las muestras urinarias de los gatos control durante los mismos periodos de tiempo en que se efectuaban los ensayos experimentales. En el primer ensayo fueron recogidas y procesadas un total de 21 muestras de orina de 24 horas

del grupo control, mientras que en el segundo ensayo el número total de muestras urinarias del grupo control fue de 15.

Los valores medios de cada uno de los parámetros para el grupo control en cada experiencia no demostraron diferencias significativas entre ellos. Esta ausencia de diferencias entre los controles nos permite, para simplificar los estudios de comparación con los grupos problemas, considerar un solo grupo control a la hora de estimar los valores de referencia.

Son por tanto, un total de 36 muestras de orina de 24 horas de los gatos control las que han sido procesadas con el fin de comprobar la distribución y calcular los valores medios de los parámetros urinarios: concentración de creatinina, densidad, concentración de proteínas, concentración de siálico, pH y relación siálico/creatinina.

La estadística básica de los resultados obtenidos para cada uno de los parámetros viene recogida en la tabla 6.1.1. Tras la comprobación, mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov, de que la distribución de los valores de los distintos parámetros de la población control se ajustaban a una distribución normal (Tablas 6.1.2.) se procedió al análisis de la posible existencia de relaciones lineales entre estas seis variables. Para ello se procedió al cálculo de los coeficientes de correlación entre estos parámetros, tomados de dos en dos (Tablas 6.1.3.).

Tabla 6.1.1. Resultados de gatos control.

Variable	Media	Desv. Tip.	Tamaño	Err. Est.	Mínimo	Máximo
Creatinina	482'60	135'003	36	22'5005	198'97	716'09
Densidad	1'0575	0'014268	36	0'002378	1'025	1'080
Siálico	0'0242	0'015805	36	0'0026341	0'00216	0'054
Siálico/Creat.	8'4543	4'6346	36	0'77243	1'4524	19'207
Proteínas	86'862	32'7057	36	5'451	45'286	177'64
pH	7'8333	1	36	0'16667	6	9

Tablas 6.1.2. Prueba de Kolmogorov-Smirnov de distribución normal.

Variable	Media	Desv. Tip.	Err.Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
Creatinina	482.605	135'003	22'5005	198'97	716'09	36

Diferencia máxima teórica: 0'1994 ($p < 0'1$) 0'2212 ($p < 0'05$)

Diferencia máxima observada: 0'087401

No se detectan diferencias significativas.

Variable	Media	Desv.Tip.	Err.Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
Densidad	1'0575	0'014268	0'002378	1'025	1'080	36

Diferencia máxima teórica: 0'1994 ($p < 0'1$) 0'2212 ($p < 0'05$)

Diferencia máxima observada: 0'084445

No se detectan diferencias significativas.

Variable	Media	Desv.Tip.	Err.Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
Siálico	0'0242	0'015805	0'0026341	0'00216	0'054	36

Diferencia máxima teórica: 0'1994 ($p < 0'1$) 0'2212 ($p < 0'05$)

Diferencia máxima observada: 0'18361

No se detectan diferencias significativas.

Variable	Media	Desv.Tip.	Err.Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
Sial/Creat	8'4543	4'6346	0'77243	1'4524	19'207	36

Diferencia máxima teórica: 0'1994 ($p < 0'1$) 0'2212 ($p < 0'05$)

Diferencia máxima observada: 0'1572

No se detectan diferencias significativas.

Variable	Media	Desv.Tip.	Err.Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
Proteínas	86'8627	32'7057	5'451	45'286	177'64	36

Diferencia máxima teórica: 0'1994 ($p < 0'1$) 0'2212 ($p < 0'05$)

Diferencia máxima observada: 0'13734

No se detectan diferencias significativas.

Variable	Media	Desv.Tip.	Err.Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
pH	7'8333	1	0'16667	6	9	36

Diferencia máxima teórica: 0'1994 ($p < 0'1$) 0'2212 ($p < 0'05$)

Diferencia máxima observada: 0'12167

No se detectan diferencias significativas.

Tablas 6.1.3. Correlación.
De la creatinina frente a los demás.

	Coef. Correlación	Tamaño	Significación
Densidad	0'84844	36	SI
Siálico	0'60657	36	SI
Siálico/Creat.	0'15441	36	NO
Proteínas	0'54783	36	SI
pH	-0'1838	36	NO

De la densidad frente a los demás.

	Coef. Correlación	Tamaño	Significación
Siálico	0'50112	36	SI
Siálico/Creat.	0'12965	36	NO
Proteínas	0'5445	36	SI
pH	-0'21527	36	NO

De siálico frente a los demás.

	Coef. Correlación	Tamaño	Significación
Siálico/Creat.	0'85069	36	SI
Proteínas	0'69286	36	SI
pH	-0'37115	36	SI

De siálico/creatinina frente a los demás.

	Coef. Correlación	Tamaño	Significación
Proteínas	0'5318	36	SI
pH	-0'36292	36	SI

De proteínas frente a pH.

	Coef. Correlación	Tamaño	Significación
pH	0'014823	36	NO

6.2. Animales problema 1 (Primera experiencia).

A los gatos les fue suministrada la dieta alcalinizante "problema 1" descrita en el apartado 5.1.4.2. del capítulo Material.

Tras el examen clínico previo, se procedió desde la primera semana a su control periódico, con el fin de evidenciar los efectos esperados de la dieta, respecto a su estado general, funcionalidad del aparato urinario y variaciones en los parámetros urinarios.

Estos animales presentaron, como datos más relevantes, desde el principio de la administración del pienso un pH urinario de 8'5, detectandose en todos los análisis de orina realizados una notable cristaluria de fosfato amónico magnésico (estruvita) con la forma cristalina característica.

La estadística básica de los resultados obtenidos en los parámetros urinarios de muestras de orina de 24 horas recogidas de los gatos problema, a partir de esta fecha, se recogen en la tabla 6.2.1. Tras la comprobación del ajuste de los valores de los distintos parámetros a una distribución normal (Tablas 6.2.2.), al igual que con el grupo control se procedió a calcular los coeficientes de correlación entre ellos (Tablas 6.2.3.).

Durante toda la experiencia ninguno de los gatos mostró signos de afección urinaria, y solo uno de ellos debió ser temporalmente retirado de la experiencia al observarse un rápido descenso de peso y alteración de las constantes biopatológicas sanguíneas que aconsejaban el tratamiento y la recuperación del animal.

La duración en el tiempo de este ensayo experimental la determinó la cantidad de dieta tipo 1 disponible, prolongándose hasta los nueve meses, comprobándose en las últimas semanas un cierto descenso de los niveles de siálico, glicoproteínas en orina y unos niveles de pH en torno a 9 (Tabla 6.2.4).

6.2.0. Electroforesis en tiras de celulosa.

Para saber qué tipos de proteínas eran las que se encontraban en nuestras muestras, realizamos electroforesis, según se observa en la figura 6.2.0. Enfrentada la muestra a un plasma de gato normal, todas las proteínas de las muestras se encontraban en la zona beta, es decir, aquella zona que corresponde a las glicoproteínas.

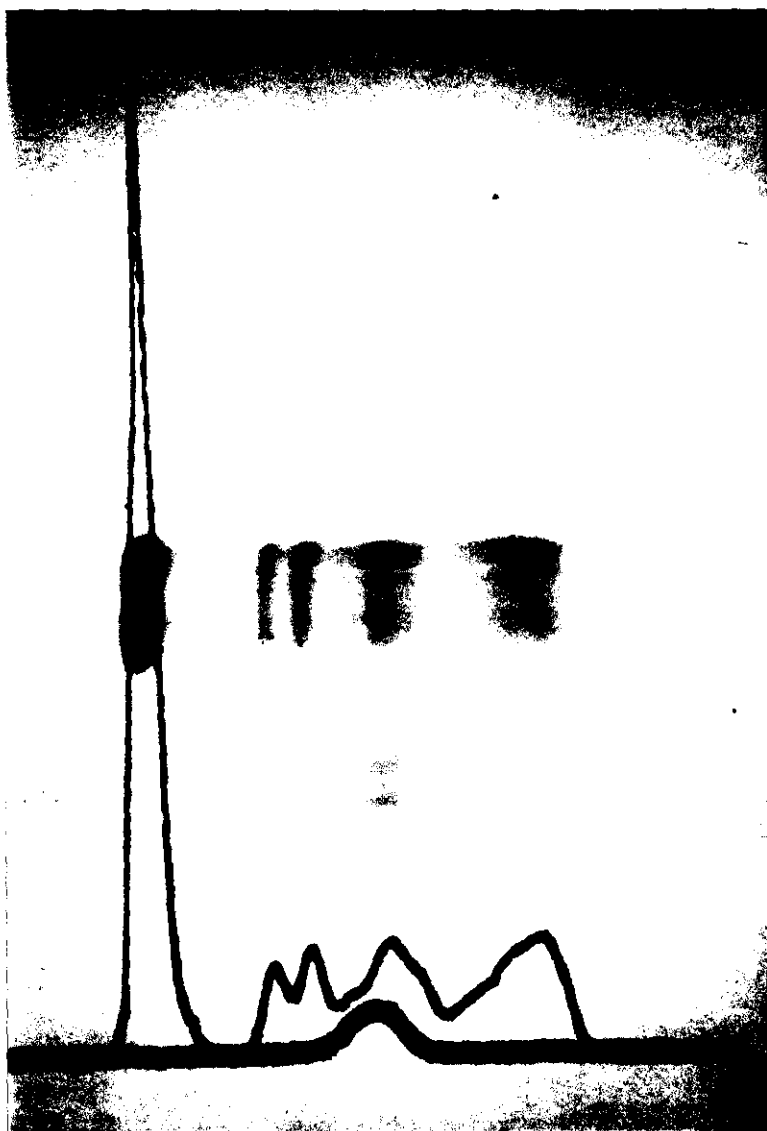


Fig. 6.2.0. Electroforesis en tira de celulosa en muestra urinaria concentrada frente a plasma de gato.

Tabla 6.2.1. Resultados de los animales problema 1.

Variable	Media	Des.Tip.	Tamaño	Err.Est.	Mínimo	Máximo
Creatinina	495'887	130'2921	46	19'2105	197'96	883'75
Densidad	1'0562	0'011699	46	0'001725	1'025	1'075
Siálico	0'029984	0'011845	46	0'0017464	0'00468	0'04923
Siál./Crea.	10'5583	3'8784	46	0'57184	1'8942	19'2695
Proteínas	45'4156	24'9315	46	3'6759	9'14	121'97
pH	8'6957	0'38699	46	0'057058	8	9

Tablas 6.2.2. Prueba de Kolmogorov-Smirnov de distribución normal.

Variable	Media	Des. Tip.	Err. Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
Creatinina	495'887	130'2921	19'2105	197'96	883'75	46

Diferencia máxima teórica: 0'1772 ($p < 0'1$) 0'196 ($p < 0'05$)

Diferencia máxima observada: 0'080527

No se detectan diferencias significativas.

Variable	Media	Des. Tip.	Err. est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
Densidad	1'0562	0'011699	0'001725	1'025	1'075	46

Diferencia máxima teórica: 0'1772 ($p < 0'1$) 0'196 ($p < 0'05$)

Diferencia máxima observada: 0'075535

No se detectan diferencias significativas.

Variable	Media	Des. Tip.	Err. Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
Siálico	0'029984	0'011845	0'0017464	0'00468	0'04923	46

Diferencia máxima teórica: 0'1772 ($p < 0'1$) 0'196 ($p < 0'05$)

Diferencia máxima observada: 0'075669

No se detectan diferencias significativas.

Variable	Media	Des. Tip.	Err. Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
Siál./Crea.	10'5584	3'8784	0'57184	1'8942	19'2695	46

Diferencia máxima teórica: 0'1772 ($p < 0'1$) 0'196 ($p < 0'05$)

Diferencia máxima observada: 0'10396

No se detectan diferencias significativas.

Variable	Media	Des. Tip.	Err. Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
Proteínas	45'4156	24'9315	3'6759	9'14	121'97	46

Diferencia máxima teórica: 0'1772 ($p < 0'1$) 0'196 ($p < 0'05$)

Diferencia máxima observada: 0'10644

No se detectan diferencias significativas.

Variable	Media	Des. Tip.	Err. Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
pH	8'6957	0'38699	0'057058	8	9	46

Diferencia máxima teórica: 0'1772 ($p < 0'1$) 0'196 ($p < 0'05$)

Diferencia máxima observada: 0'2158

Diferencias significativas ($p < 0'05$)

Tablas 6.2.3. Correlación.
De creatinina frente a los demás.

	Coef. Correlación	Tamaño	Significación
Densidad	0'69331	46	SI
Siálico	0'58382	46	SI
Siálico/Creat.	-0'1163	46	NO
Proteínas	0'16584	46	NO
pH	0'21174	46	NO

De densidad frente a los demás.

	Coef. Correlación	Tamaño	Significación
Siálico	0'45791	46	SI
Siálico/Creat.	-0'03169	46	NO
Proteínas	0'49772	46	SI
pH	0'21714	46	NO

De siálico frente a los demás.

	Coef. Correlación	Tamaño	Significación
Siálico/Creat.	0'71249	46	SI
Proteínas	0'37223	46	SI
pH	-0'14457	46	NO

De siálico/creatinina frente a los demás.

	Coef. Correlación	Tamaño	Significación
Proteínas	0'31111	46	SI
pH	-0'39469	46	SI

De proteínas frente a pH.

	Coef. Correlación	Tamaño	Significación
pH	-0'14629	46	NO

Tablas 6.2.4.

Variable	Media	Des. Tip.	Err. Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
Mes 6	13'3456	3'9308	1'1852	8'8574	19'2695	11
Mes 7	10'3497	2'618	0'6006	6'0761	16'4011	19
Mes 8	8'5442	4'5577	1'04413	1'8942	13'6504	10
Mes 9	9'4662	3'9508	1'6129	4'8878	13'6504	6

Media global: 10'5583 Tamaño global: 46

Varianza factorial: 44'669 Grados de libertad: 3

Varianza residual: 12'9257 Grados de libertad: 42

F experimental: 3'4558

Significativo ($p < 0'05$)

6.3. Animales problema 2 (Segunda experiencia).

A los animales les fue suministrada la dieta alcalinizante problema 2 descrita en el apartado 5.1.4.3. del capítulo Material.

Tras el examen clínico previo, se procedió desde el primer día a su control periódico, al igual que en la experiencia anterior.

Todos los gatos presentaron desde la administración del pienso, una elevación del pH urinario, hasta situarse, en los tres primeros días, por encima de 9'5. Igualmente se detectó desde los primeros momentos una cristaluria de estruvita con una morfología cristalina diferente a la típica en el sentido de que estos cristales se presentaban unidos dando lugar a asociaciones como las que se pueden observar en el capítulo ***** . A diferencia de la experiencia anterior, desde la primera semana se observaron variaciones en los valores de la concentración de siálico (glicoproteínas en la orina), solo que en este caso, en contra de nuestra hipótesis, con una tendencia al descenso de estos valores.

La duración del ensayo fue de tres meses, si bien el mayor número de determinaciones de los parámetros urinarios fueron realizadas en las tres primeras semanas. Tres de los gatos presentaron signos de alteración urinaria (hematuria, polaquiuria, estranguria); incluso en uno de ellos se produjo obstrucción uretral, al aparecer estos signos se retiró el pienso y se instauró un tratamiento. En dos de estos animales, bajo un control clínico riguroso, se mantuvo la experiencia con el fin de obtener un mayor número de datos.

La estadística básica de los resultados obtenidos de los parámetros urinarios de muestras de orina de 24 horas de los gatos durante esta experiencia se recogen en la tabla 6.3.1. Tras la comprobación del ajuste de los valores a una distribución normal (tablas 6.3.2.), se procedió al análisis de la existencia de relaciones lineales entre ellos (tabla 6.3.3.). Al igual que en el ensayo anterior, como era de esperar, la distribución del pH urinario no refleja una distribución normal.

Los valores medios de la concentración de siálico en relación con la concentración de creatinina obtenidos en distintos intervalos de tiempo (primera semana, segunda semana, segundo mes y tercer mes) fueron comparados entre sí, mediante un análisis de varianza, con el fin de determinar la posible existencia de diferencias significativas (tabla 6.3.4.).

Tabla 6.3.1. Resultados de los gatos problema 2.

Variable	Media	Des. Tip.	Tamaño	Err. Est.	Mínimo	Máximo
Creatinina	465'5949	147'3914	67	18'0067	129'28	882'74
Densidad	1'0558	0'011268	67	0'0013766	1'020	1'075
Siálico	0'0168	0'0097663	67	0'0011931	0'00126	0'04698
Siál./Crea.	6'8592	4'0238	67	0'49158	0'4038	16'2108
Proteínas	59'9893	48'7875	67	5'9603	3'05	177'21
pH	9'9701	0'24434	67	0'029851	8	10

Tablas 6.3.2. Prueba de Kolmogorov-Smirnov de distribución normal.

Variable	Media	Des. Tip.	Err. Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
Creatinina	465'5949	147'3914	18'0067	129'28	882'74	67

Diferencia máxima teórica: 0'147 ($p < 0'1$) 0'1636 ($p < 0'05$)

Diferencia máxima observada: 0'057658

No se detectan diferencias significativas.

Variable	Media	Des. Tip.	Err. Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
Densidad	1'0558	0'011268	0'0013766	1'020	1'075	67

Diferencia máxima teórica: 0'147 ($p < 0'1$) 0'1636 ($p < 0'05$)

Diferencia máxima observada: 0'11809

No se detectan diferencias significativas.

Variable	Media	Des. Tip.	Err. Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
Siálico	0'0168	0'0097663	0'0011931	0'00126	0'04698	67

Diferencia máxima teórica: 0'147 ($p < 0'1$) 0'1636 ($p < 0'05$)

Diferencia máxima observada: 0'061536

No se detectan diferencias significativas.

Variable	Media	Des. Tip.	Err. Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
Siál./Crea.	6'8592	4'0238	0'49158	0'4038	16'2108	67

Diferencia máxima teórica: 0'147 ($p < 0'1$) 0'1636 ($p < 0'05$)

Diferencia máxima observada: 0'10553

No se detectan diferencias significativas.

Variable	Media	Des. Tip.	Err. Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
Proteínas	59'9893	48'7875	5'9603	3'05	177'21	67

Diferencia máxima teórica: 0'147 ($p < 0'1$) 0'1636 ($p < 0'05$)

Diferencia máxima observada: 0'15116

Diferencias casi significativas ($p < 0'01$).

Variable	Media	Des. Tip.	Err. Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
pH	9'9701	0'24434	0'029851	8	10	67

Diferencia máxima teórica: 0'147 ($p < 0'1$) 0'1636 ($p < 0'05$)

Diferencia máxima observada: 0'45138

Diferencias significativas ($p < 0'05$).

Tablas 6.3.3. Correlación.

De la creatinina frente a los demás.

	Coef. Correlación	Tamaño	Significación
Densidad	0'713	67	SI
Siálico	0'085601	67	NO
Siálico/Creat.	-0'40672	67	SI
Proteínas	0'25901	67	SI
pH	0'10792	67	NO

De la densidad frente a los demás.

	Coef. Correlación	Tamaño	Significación
Siálico	-0'037442	67	NO
Siálico/Creat	-0'49151	67	SI
Proteínas	0'45878	67	SI
pH	0'17413	67	NO

De siálico frente a los demás.

	Coef. Correlación	Tamaño	Significación
Siálico/Creat.	0'82669	67	SI
Proteínas	-0'11966	67	NO
pH	-0'071639	67	NO

De siálico/creatinina frente a los demás.

	Coef. Correlación	Tamaño	Significación
Proteínas	-0'31801	67	SI
pH	-0'14181	67	NO

De proteínas frente a pH.

	Coef. Correlación	Tamaño	Significación
pH	0'1027	67	NO

Tabla 6.3.4. Análisis de varianza de los valores siálico/creatinina en el tiempo.

Variable	Media	Des. Tip.	Err. Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
Semana 1	8'7614	4'2029	0'87637	0'4038	16'2108	23
Semana 2	6'6784	3'5293	1'1764	2'3757	11'4976	9
Semana 3	6'7375	3'8166	0'92565	1'2372	13'051	17
Mes 2	4'7063	2'3850	0'75421	1'2298	7'816	10
Mes 3	4'5434	4'1927	1'4823	0'7627	13'1486	8

Media Global: 6'8592 Tamaño global: 67

Varianza factorial: 43'2558 Grados de libertad: 4

Varianza residual: 14'4446 Grados de libertad: 62

F experimental: 2'9946

Significativo ($p < 0'05$)

6.4. Estudio histológico.

Hemos realizado estudios de Microscopía óptica convencional, Microscopía electrónica de transmisión y de barrido, pensando que en las distintas partes de la uretra podríamos encontrar algunas estructuras que justificaran la formación de tapones mucosos y/o cristales en la orina de los gatos.

Estructura general:

La uretra masculina está constituida por una parte intrapélvica y otra peneal y su estructura básica consiste de dentro a fuera en:

Mucosa: con un epitelio variable desde transicional a cilíndrico o plano estratificado, en el seno del epitelio se pueden encontrar glándulas intraepiteliales de secreción mucosa.

Lámina propia: con abundantes fibras elásticas y glándulas foliculares o arracimadas, ambas mucosas presentes en algunos tramos.

Submucosa: con elevada cantidad de fibras elásticas y vasos que constituyen en algunas porciones del órgano el cuerpo esponjoso o cavernoso (tejido eréctil).

Muscular: con fibras lisas circulares externas y longitudinales internas.

Adventicia: que según tramos estaría constituida por músculos perineales, aponeurosis a próstata.

La denominación, así como el componente epitelial de la mucosa y cantidad de tejido glandular, no está suficientemente claro y varía según los tratados utilizados entre las diferentes especies animales (Rebollo, 1973 , Weiss, 1982, Banks, 1992, Batamuzzi, 1995).

Partes de la uretra.

En el gato nosotros hablaremos de tres porciones uretrales: Uretra prostática (desde salida de uréteres, hasta salida de próstata).

En su parte anterior posee epitelio de transición (Fig. 6.4.I., 6.4.II. y 6.4.III.) y en la inferior o posterior epitelio cilíndrico estratificado (Fig. 6.4.IV., 6.4.V. y 6.4.VI.). En gatos y caballos esta porción es muy rica en glándulas mucosas intraepiteliales (Fig. 6.4.VII.) aunque en gatos no existen estas glándulas en la zona preprostática.

Uretra membranosa: es de recorrido muy corto, desde salida de la próstata hasta el comienzo del pene. En esta zona desembocan las glándulas bulbouretrales y el epitelio de la mucosa es cilíndrico estratificado más o menos alto (Fig. 6.4.VIII.)

Uretra Esponjosa: cavernosa o peneana desde el cuerpo cavernoso hasta el extremo del pene y el epitelio es cilíndrico estratificado o plano estratificado no queratinizado con vasos intraepiteliales en la última porción. En este tramo uretral pueden aparecer células caliciformes interepiteliales en diferentes proporciones y glándulas mucosas en lámina propia en distintas cantidades según las especies animales. En el gato aparece una discreta cantidad de células PAS+ (Fig. 6.4.IX. y 6.4.X.).

Al mismo tiempo que hemos observado la mucosa de los distintos tramos uretrales en gatos sanos de distintas edades, también realizamos con Microscopía electrónica de barrido un estudio de la orina de gatos con tapones mucosos (FUS).

No hemos podido, por otra parte, comprobar las lesiones morfológicas de las uretras de estos animales con FUS debido a las razones ya expuestas.

Tapones mucosos.

Los tapones mucosos estaban constituidos por glóbulos rojos normales y patológicos (en crenación), plaquetas, acúmulos proteicos a manera de pseudocilindros, algunas bacterias

y formaciones cristaloides bien definidas como las típicas de estruvita (Fig.6.4.Xi., 6.4.XII, 6.4.XIII. y 6.4.XIV.).



Fig. 6.4.I. Microscopía óptica. Uretra prostática craneal. Epitelio de transición. H-E, 25x.

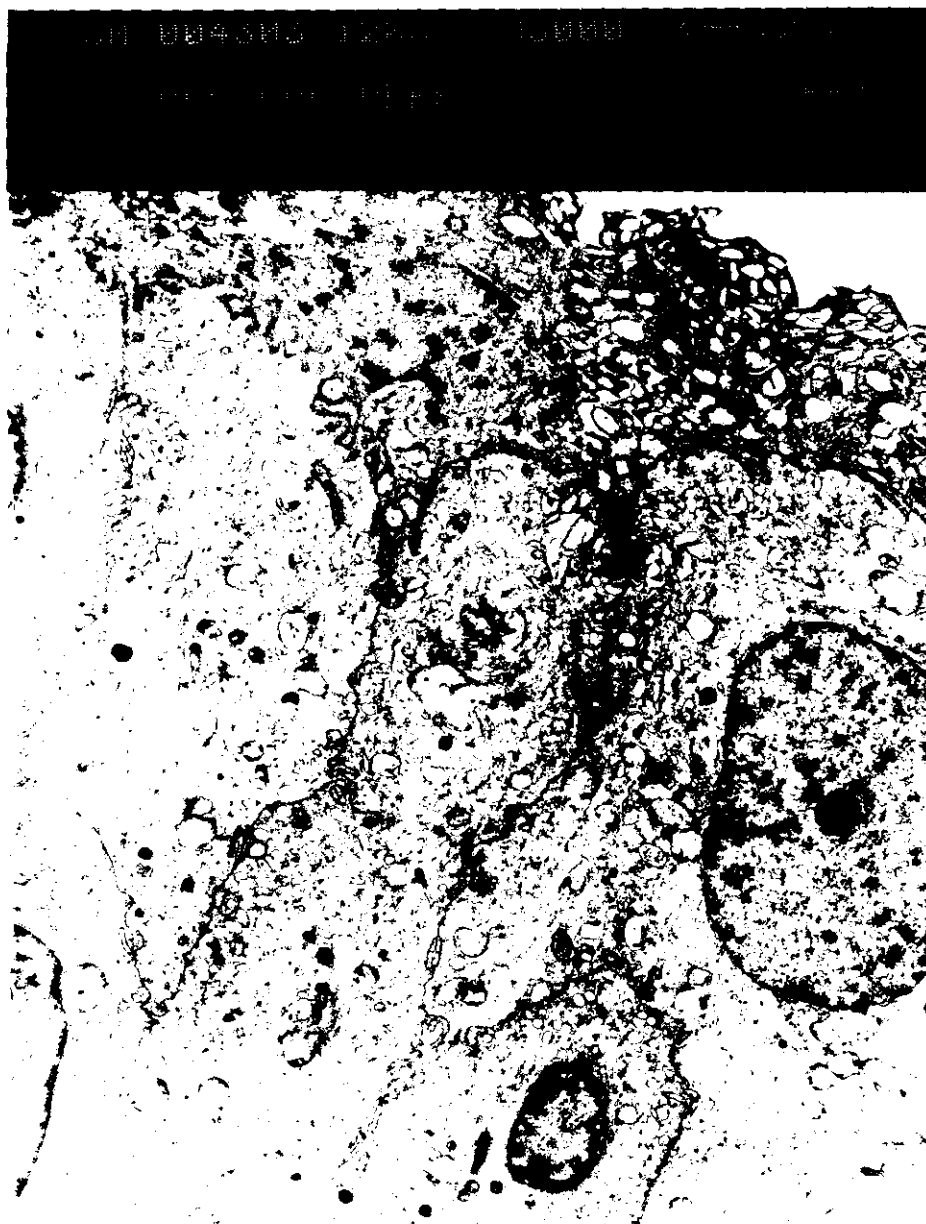


Fig. 6.4.II. Microscopía electrónica de transmisión. Uretra prostática craneal. Epitelio de transición. 3.000x



Fig 6.4.III. Microscopía electrónica de barrido. Uretra prostática craneal. Epitelio de transición. 1.000x.



Fig. 6.4.IV. M/O. Uretra prostática caudal. Epitelio estratificado cilíndrico. H-E, 25x

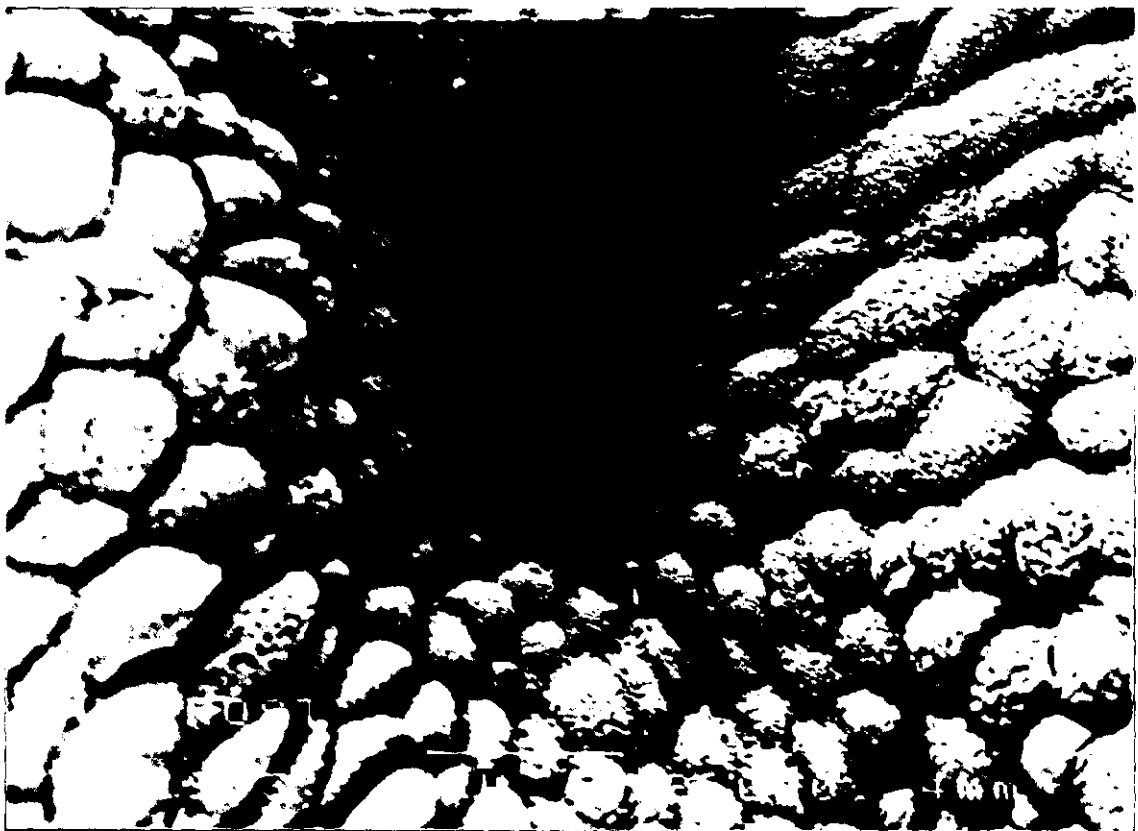


Fig. 6.4.V. M.E.B. Ur. Pros. Caudal. Epitelio con microvellosidades.

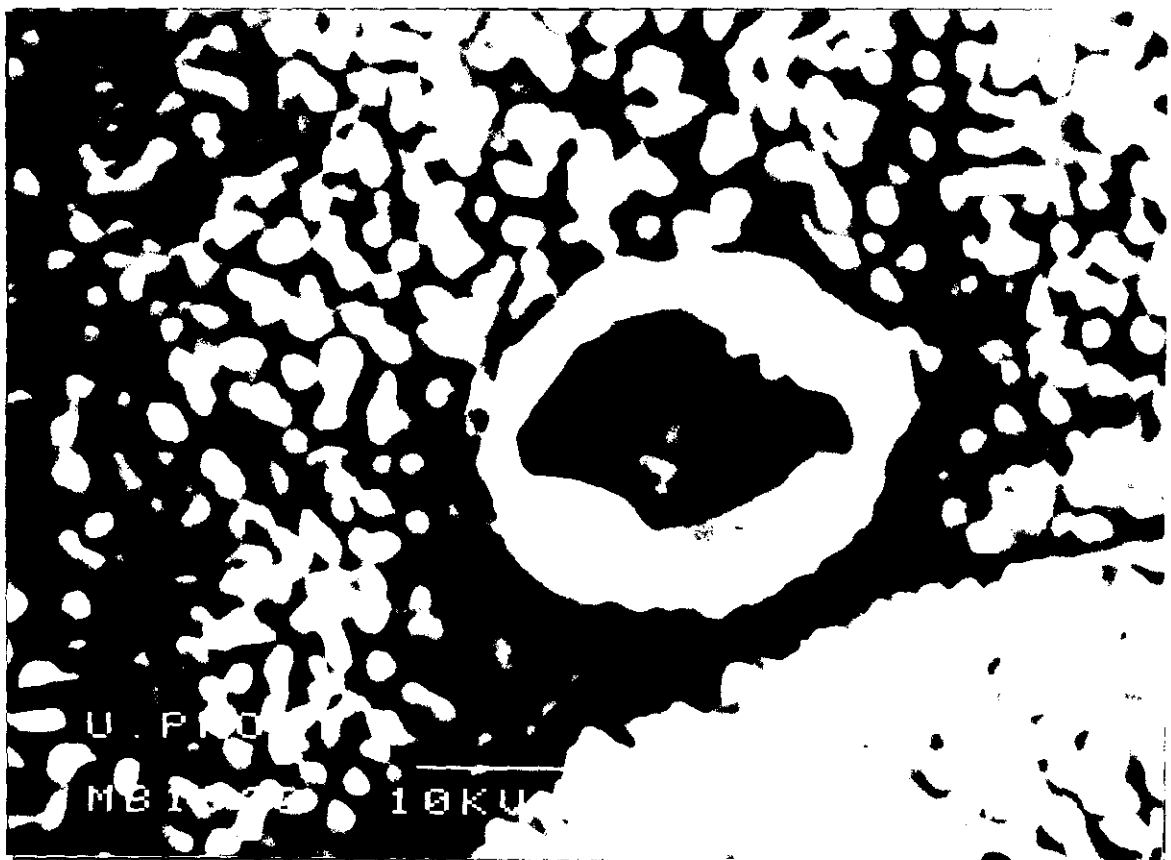


Fig. 6.4.VI. M.E.B. Detalle de la fig. 6.4.V. con un posible artefacto.

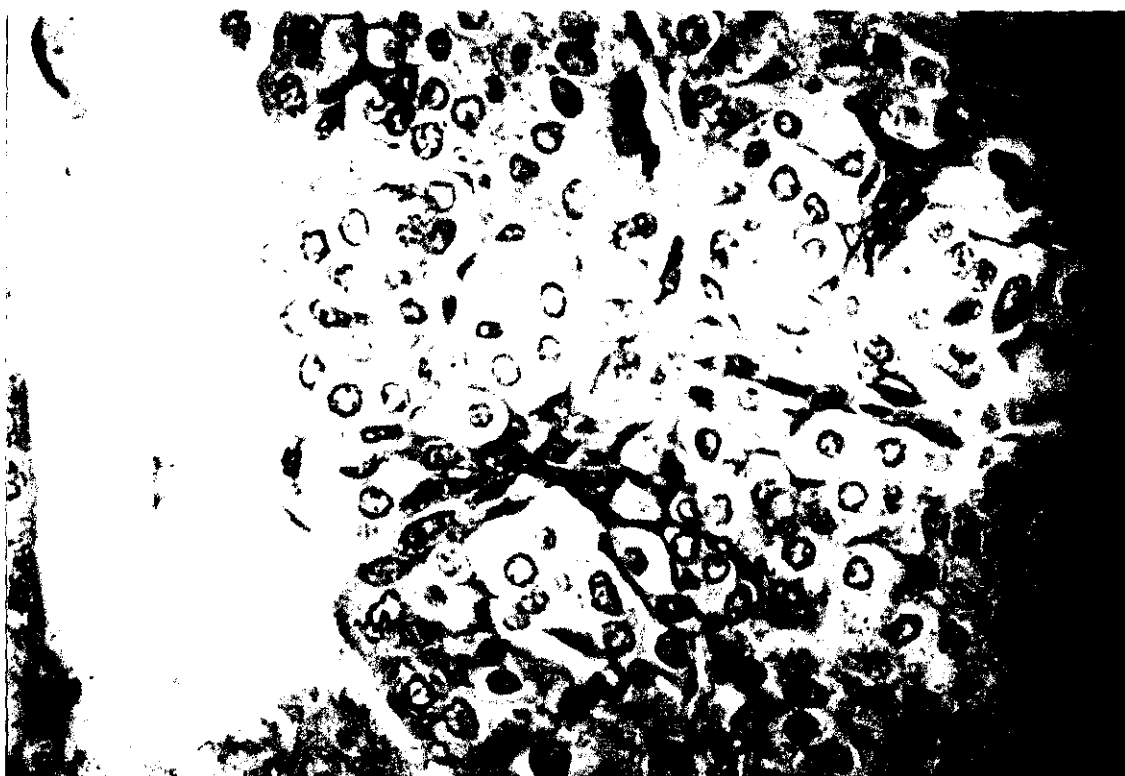


Fig. 6.4.VII. M/O. Uretra prostática, glándulas mucosas intraepiteliales. P.A.S. 25x.

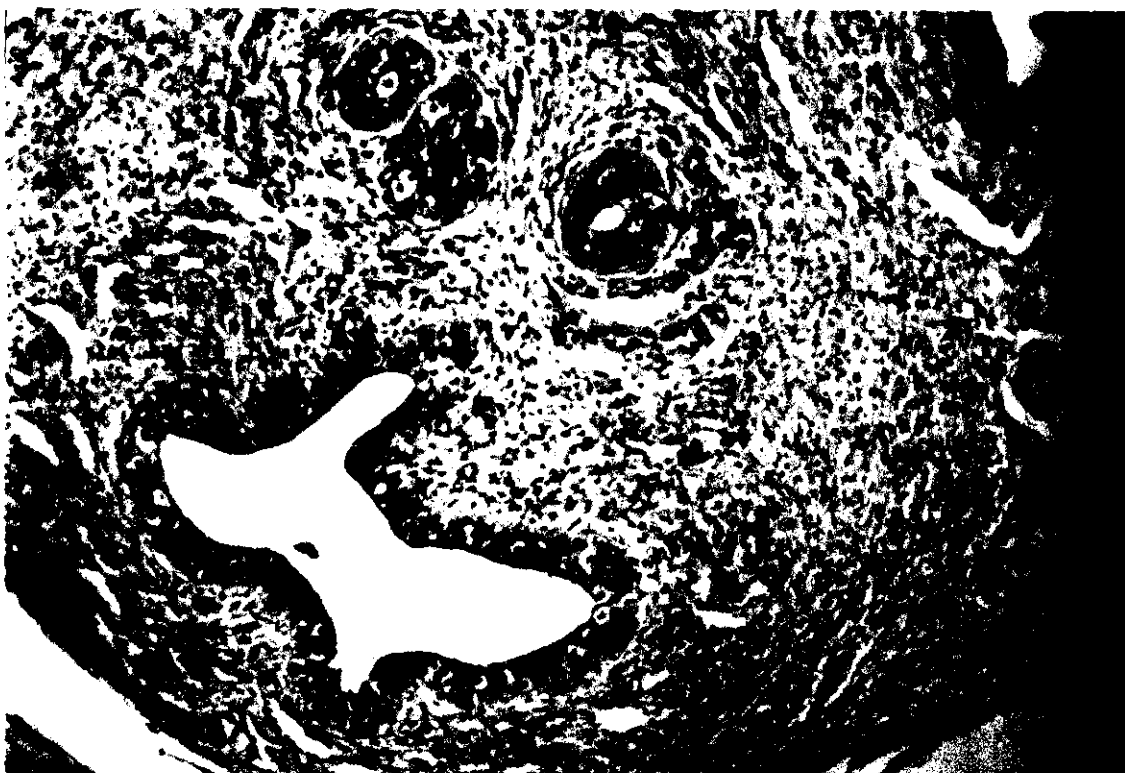


Fig. 6.4.VIII. M/O. Uretra membranosa, glándulas bulbouretrales ricas en componente mucoso. P.A.S. 25x.

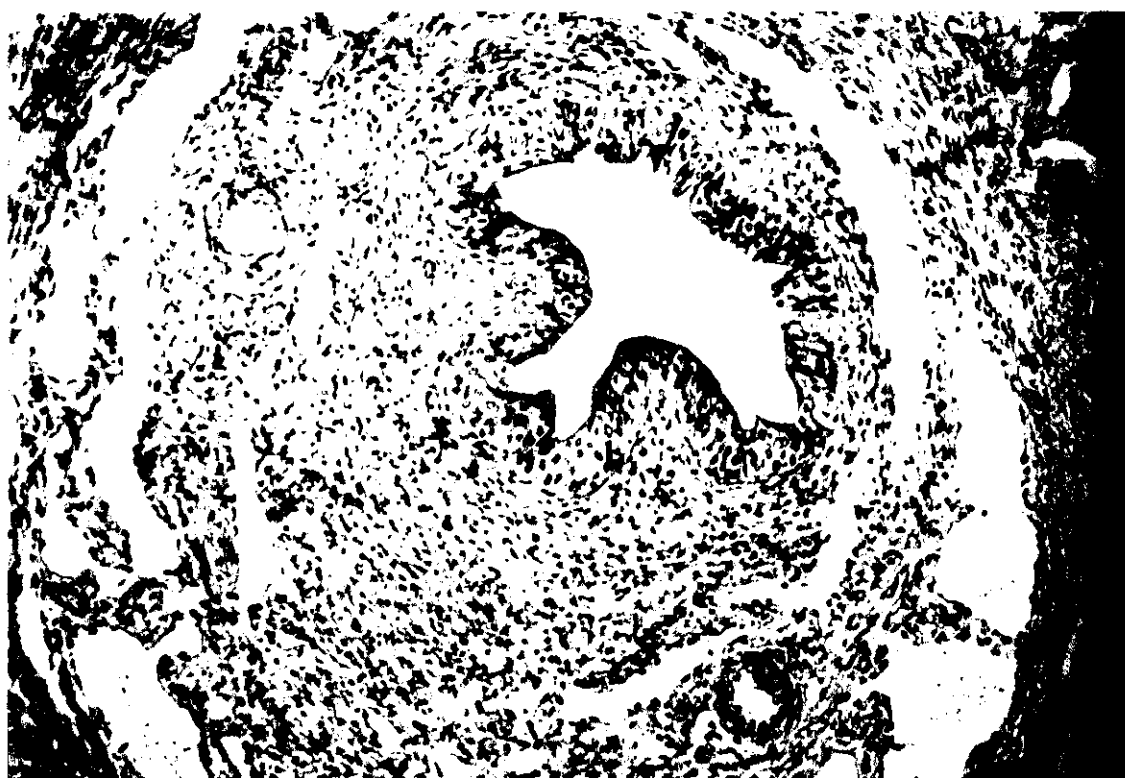


Fig. 6.4.IX. M/O. Uretra esponjosa, cavernosa o peneana. P.A.S. 10x.



Fig. 6.4.X. M/O. Uretra esponjosa. Epitelio estratificado cilíndrico bajo. Algunas células P.A.S.+ (caliciformes). P.A.S. 25x.

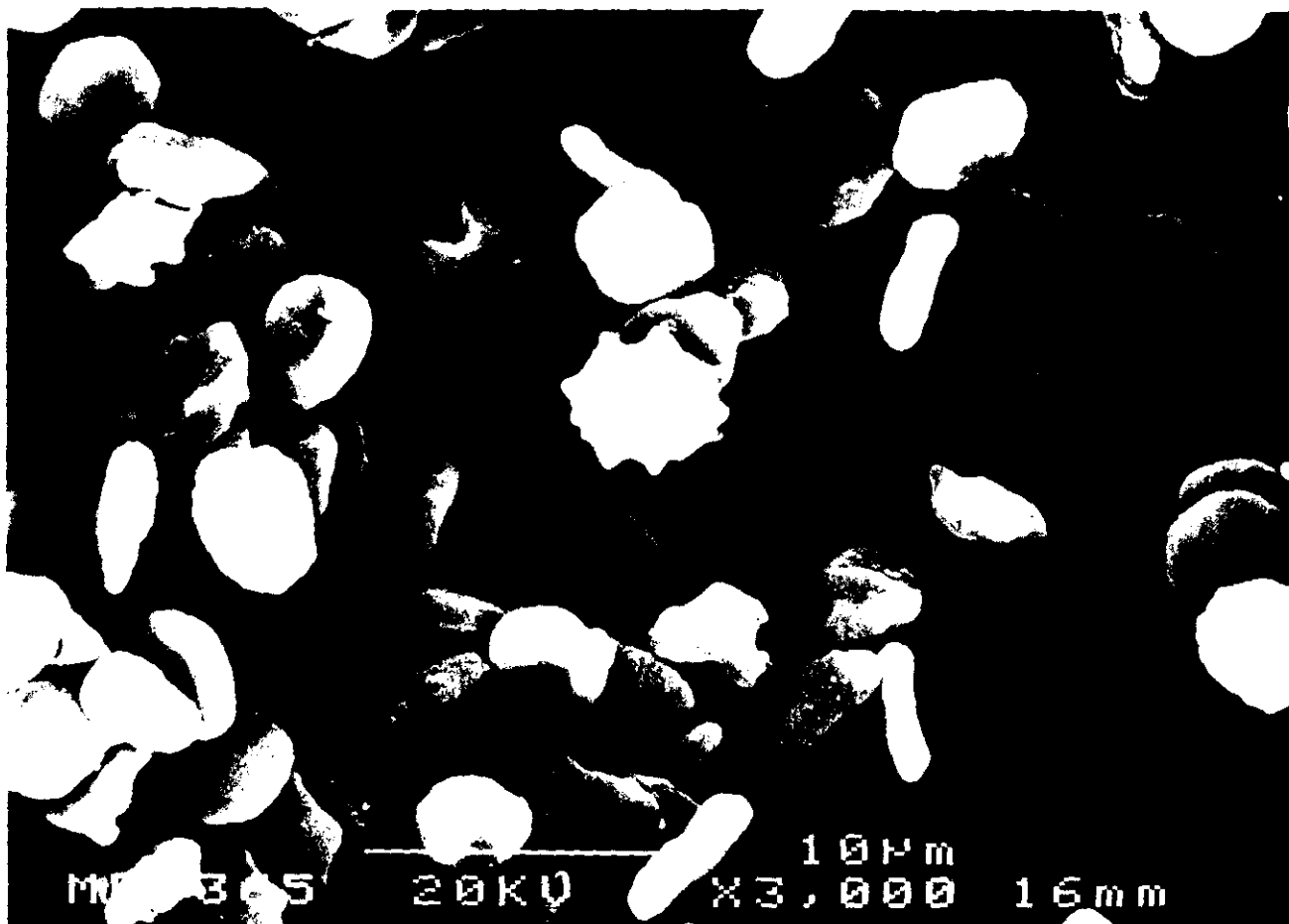


Fig. 6.4.XI. M.E.B. Componentes de la orina (F.U.S.), glóbulos rojos en crenación.

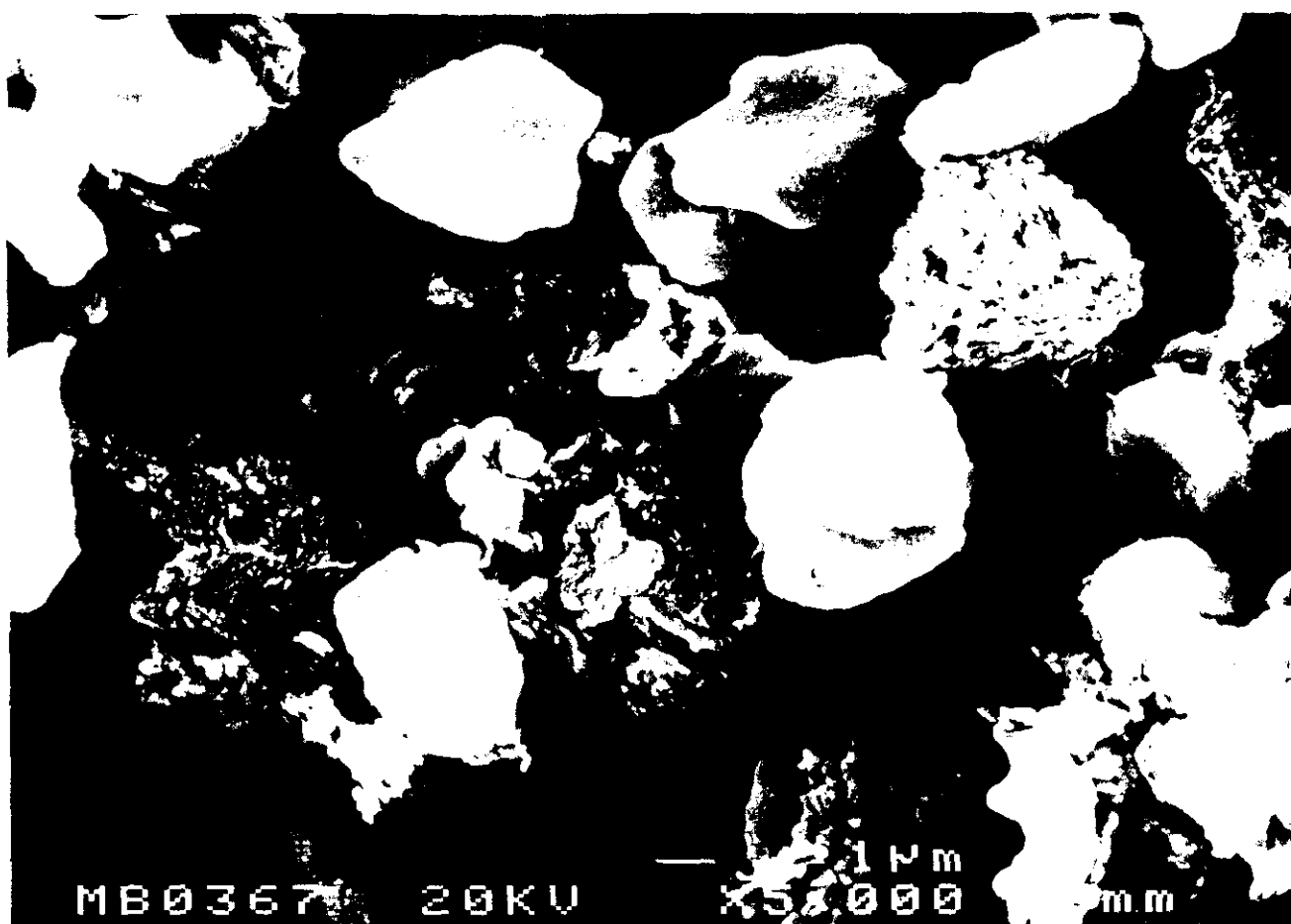


Fig. 6.4.XII. M.E.B. Componentes de la orina (F.U.S.). Glóbulos rojos, plaquetas, bacterias, proteínas a manera de cilindros.

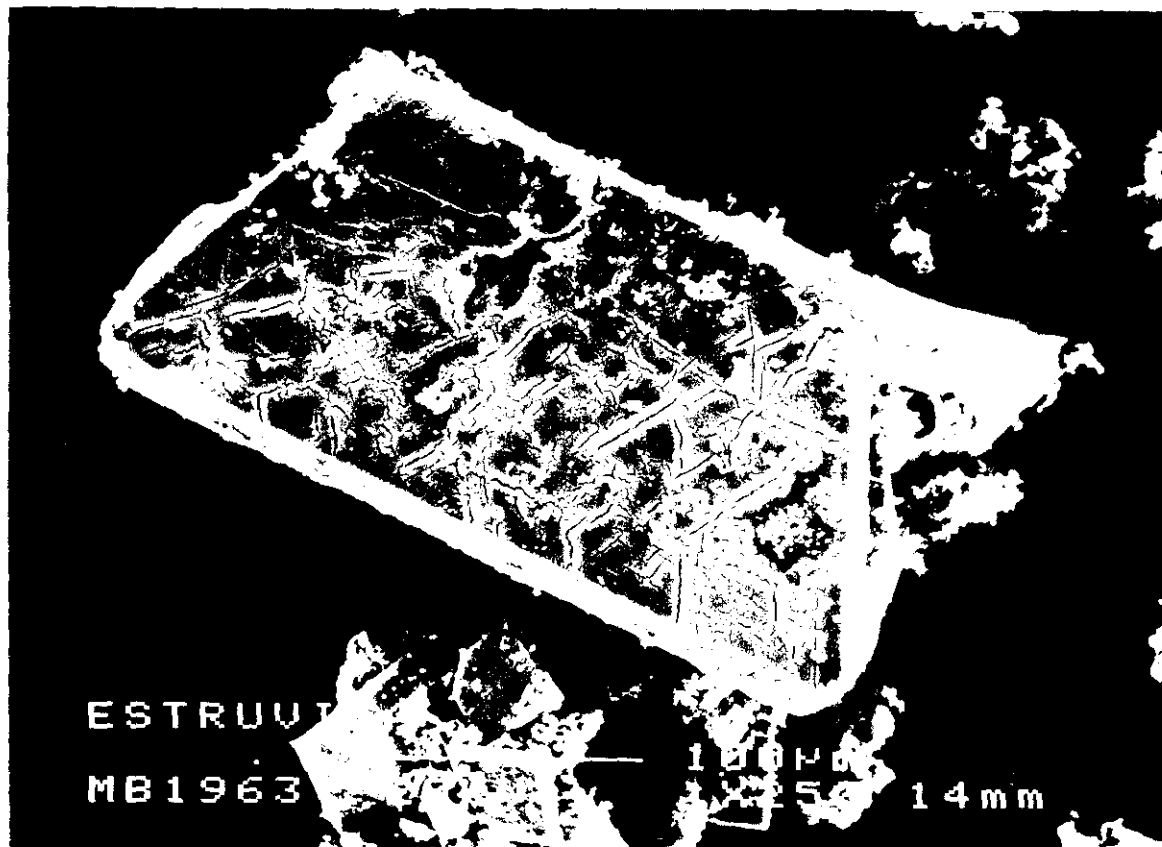


Fig. 6.4.XIII. Componentes de la orina (F.U.S.). Cristal de estruvita con proteínas y plaquetas adheridas.



Fig. 6.4.XIV. Igual que la anterior 7.000x.

6.5. Cristalización de la estruvita a diferentes valores de pH.

A continuación exponemos las imágenes de los cristales de estruvita obtenidos en diferentes pH, observados mediante microscopía óptica y microscopía electrónica de barrido.

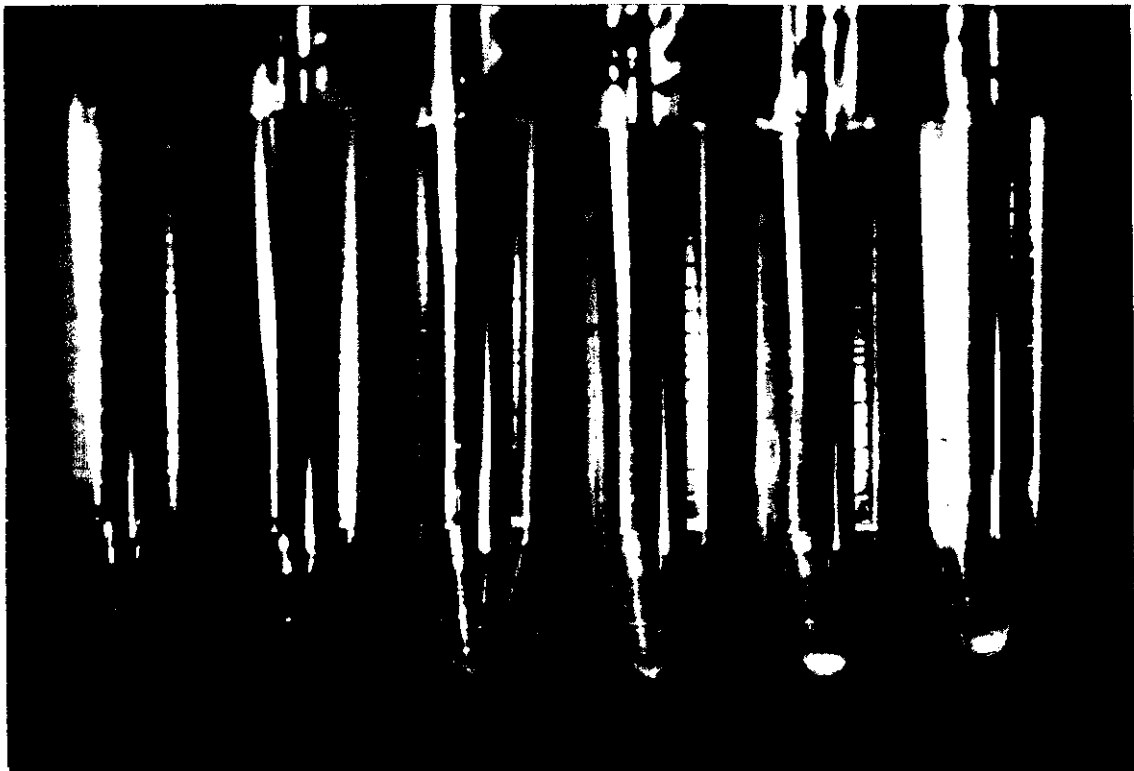
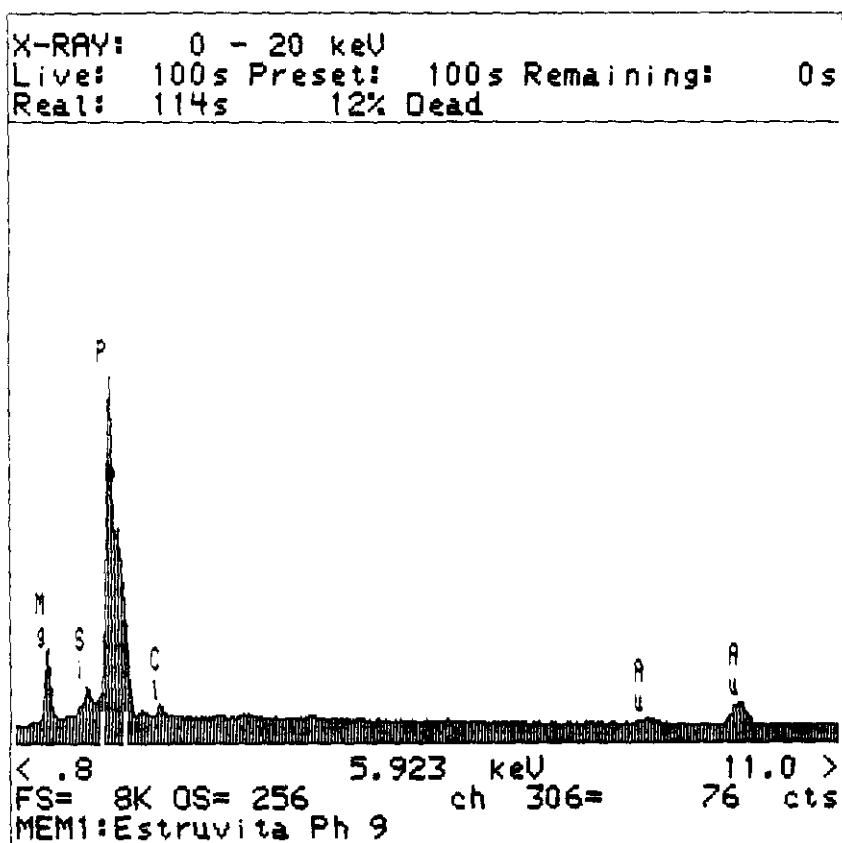
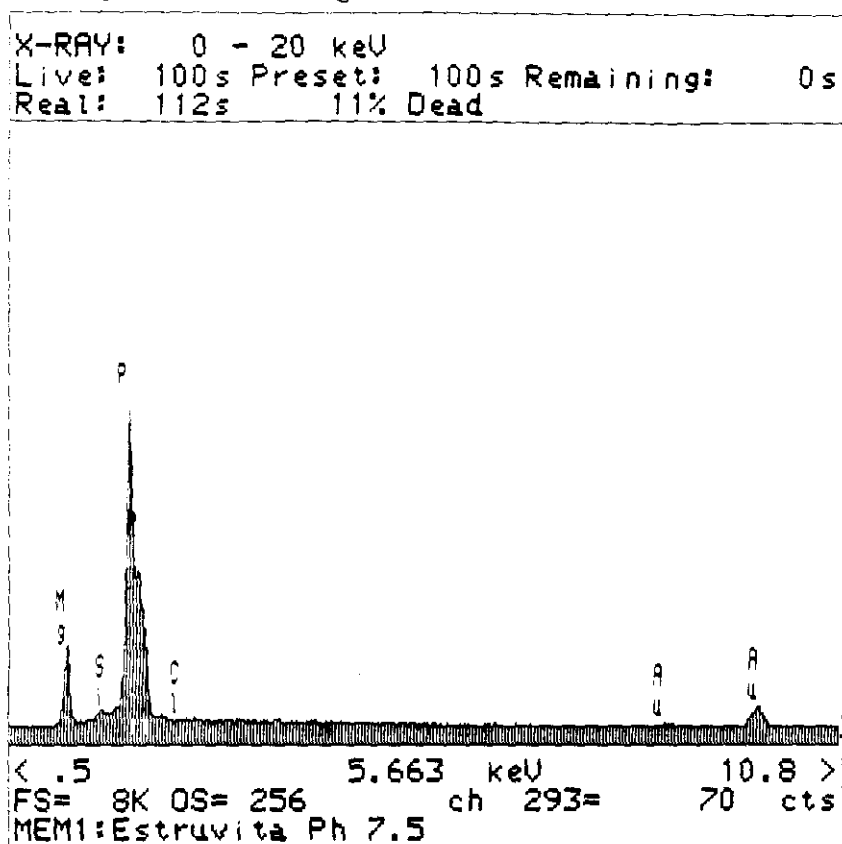


Fig. 6.5.I. Formación de la estruvita a diferentes pH (7, 7'5, 8, 8'5, 9, 9'5).

Se realizó también la determinación del espectro de difracción de rayos X (EDAX).
A continuación se exponen dos de las gráficas resultantes.



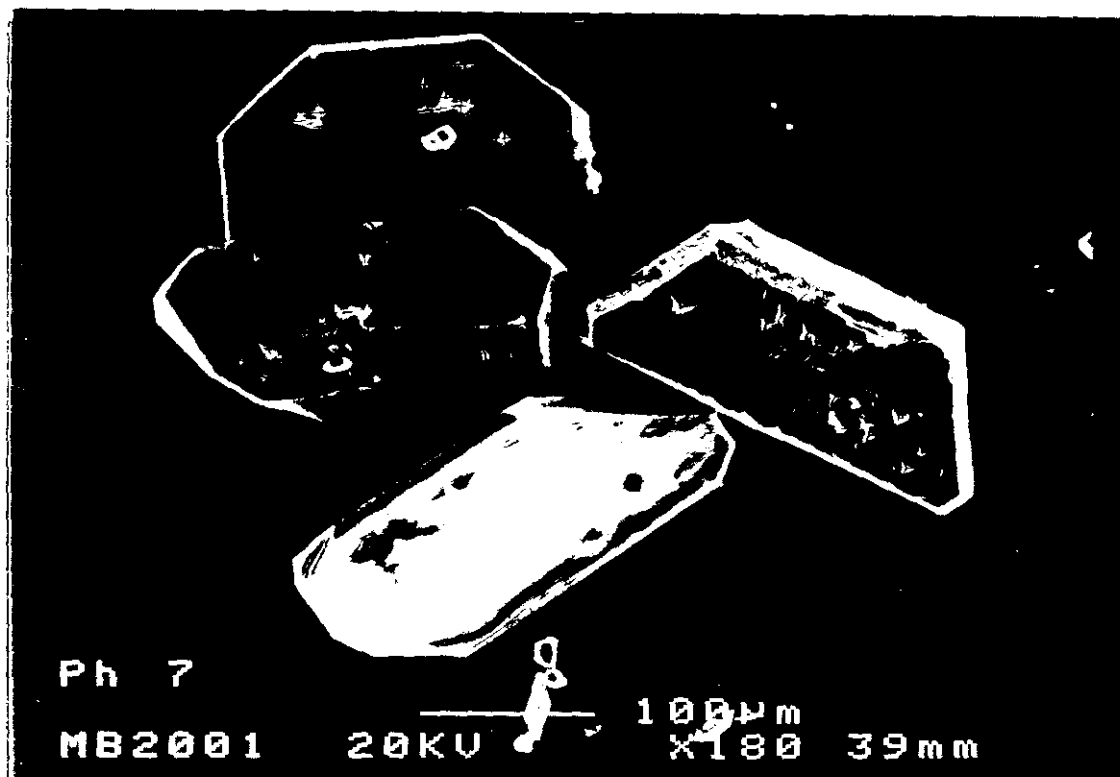


Fig. 6.5.II. Micrografía de barrido de cristales de estruvita obtenidos a pH 7.

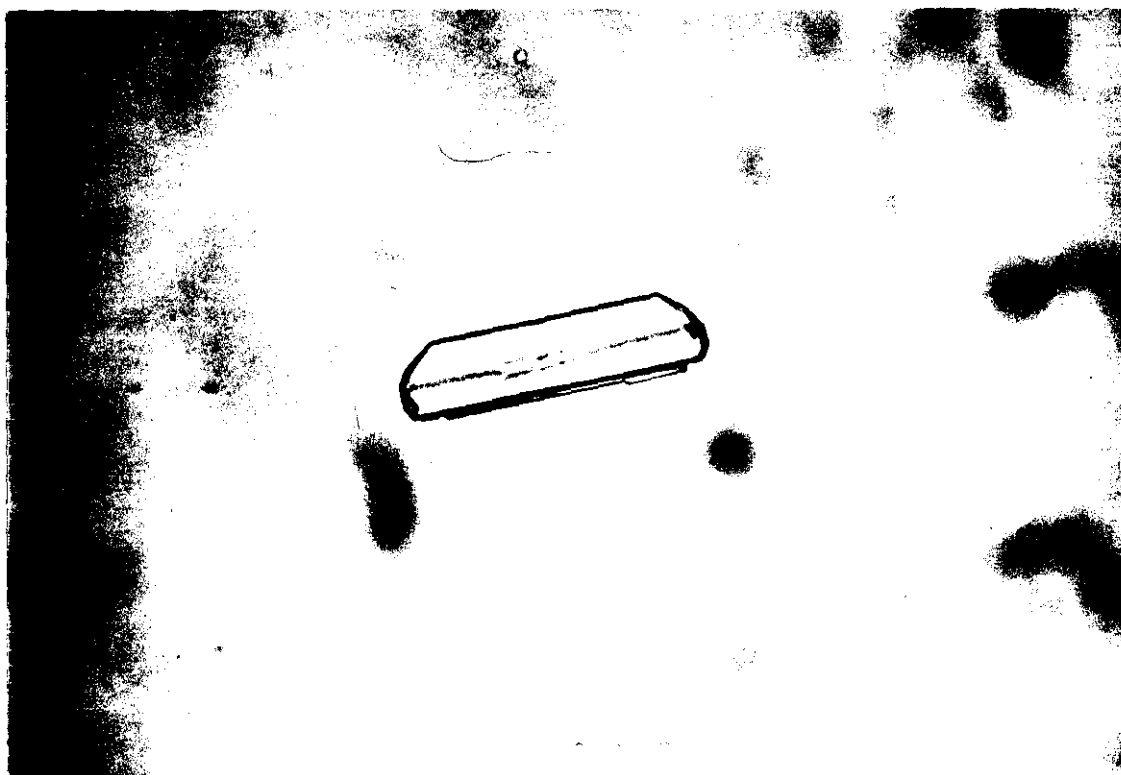


Fig. 6.5.III. Micrografía óptica de cristales de estruvita obtenidos a pH 7 (x400).



Fig. 6.5.IV. Micrografía de barrido de cristales de estruvita obtenidos a pH 7.5.

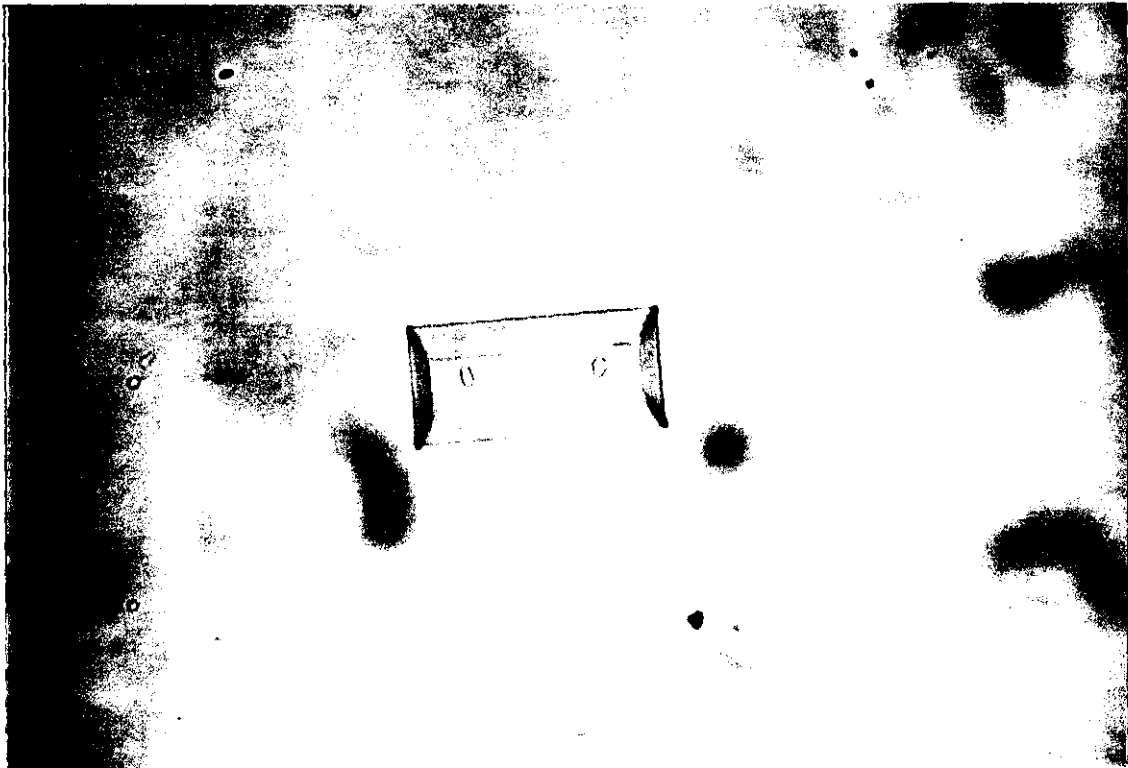


Fig. 6.5.V. Micrografía óptica de cristales de estruvita obtenidos a pH 7.5 (x400).



Fig. 6.5.VI. Micrografía de barrido de cristales de estruvita obtenidos a pH 8.

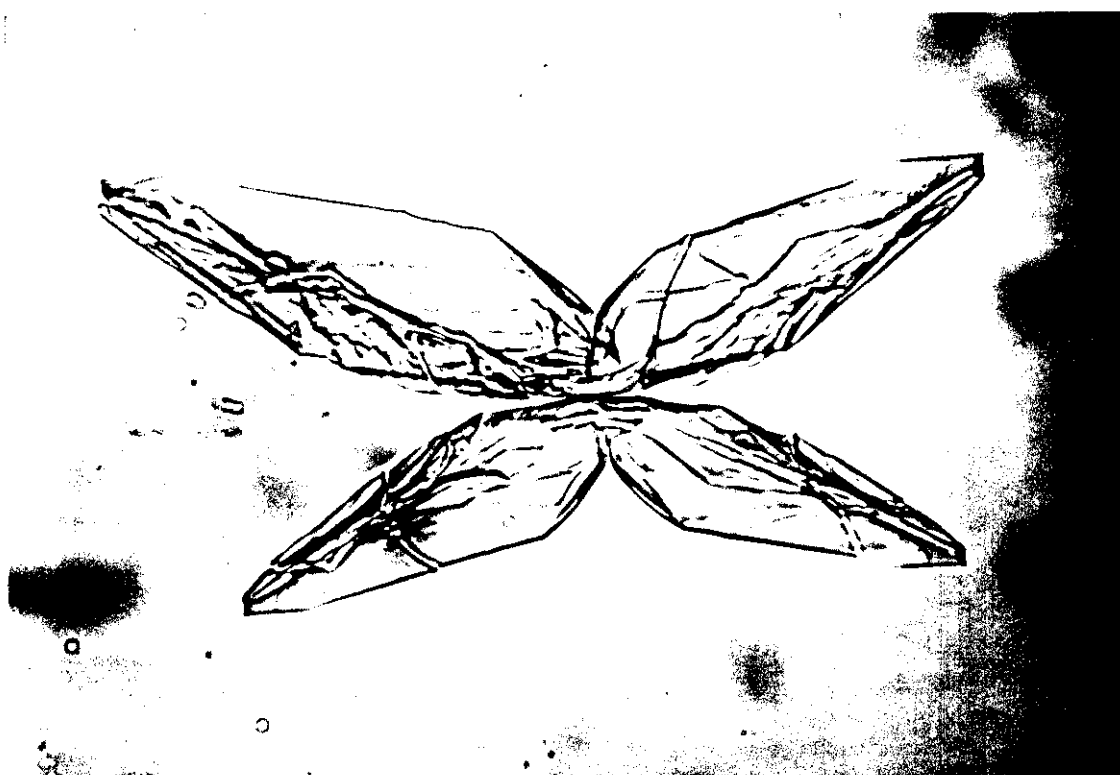


Fig. 6.5.VII. Micrografía óptica de cristales de estruvita obtenidos a pH 8 (x400).

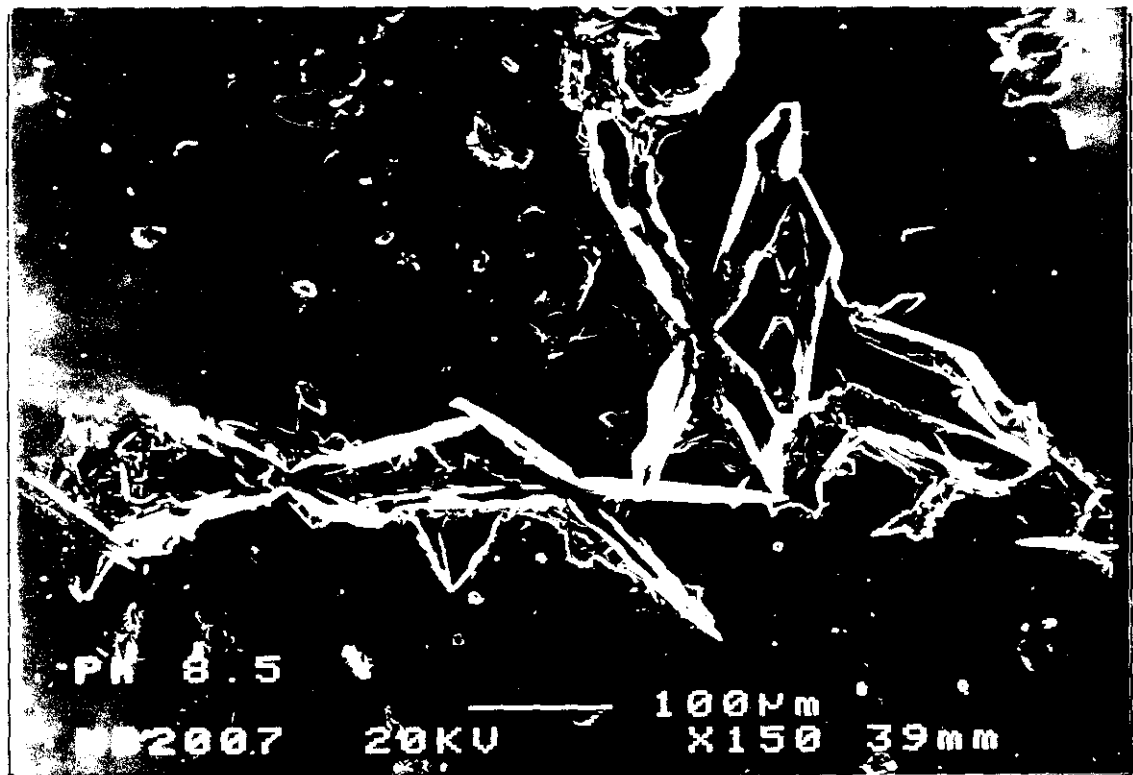


Fig. 6.5.VIII. Micrografía de barrido de cristales de estruvita obtenidos a pH 8'5.



Fig. 6.5.IX. Micrografía óptica de cristales de estruvita obtenidos a pH 8'5 (x400).

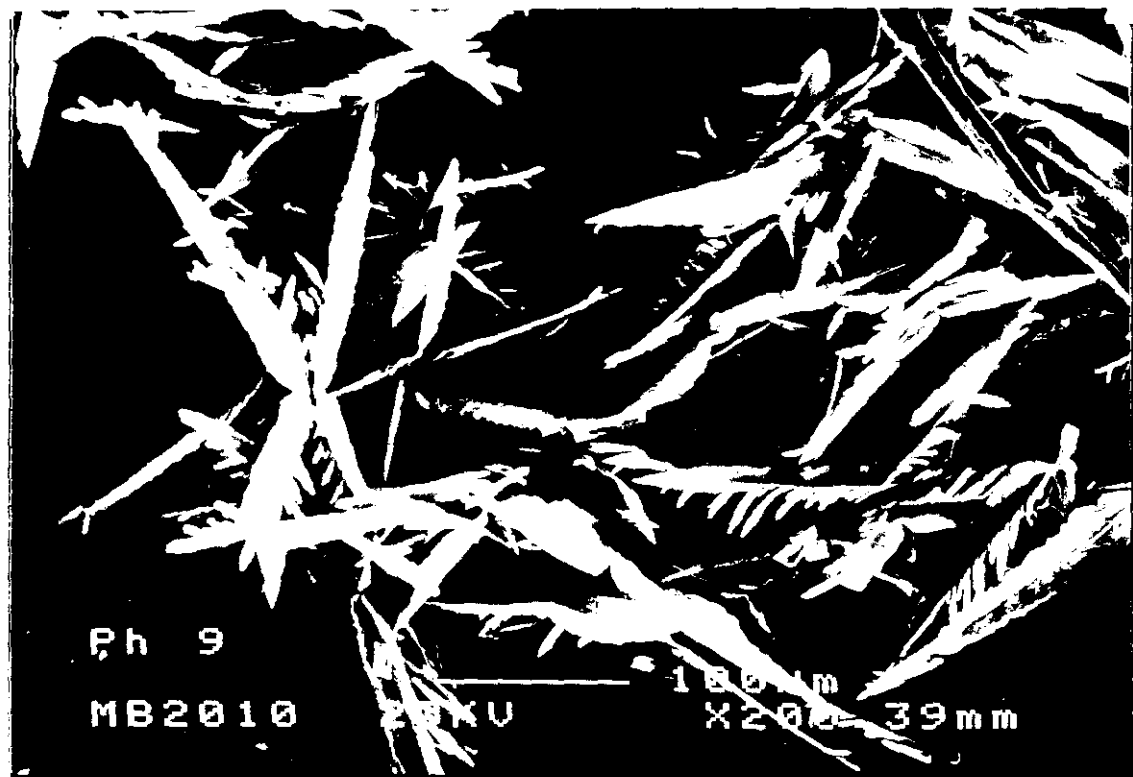


Fig. 6.5.X. Micrografía de barrido de cristales de estruvita obtenidos a pH 9.

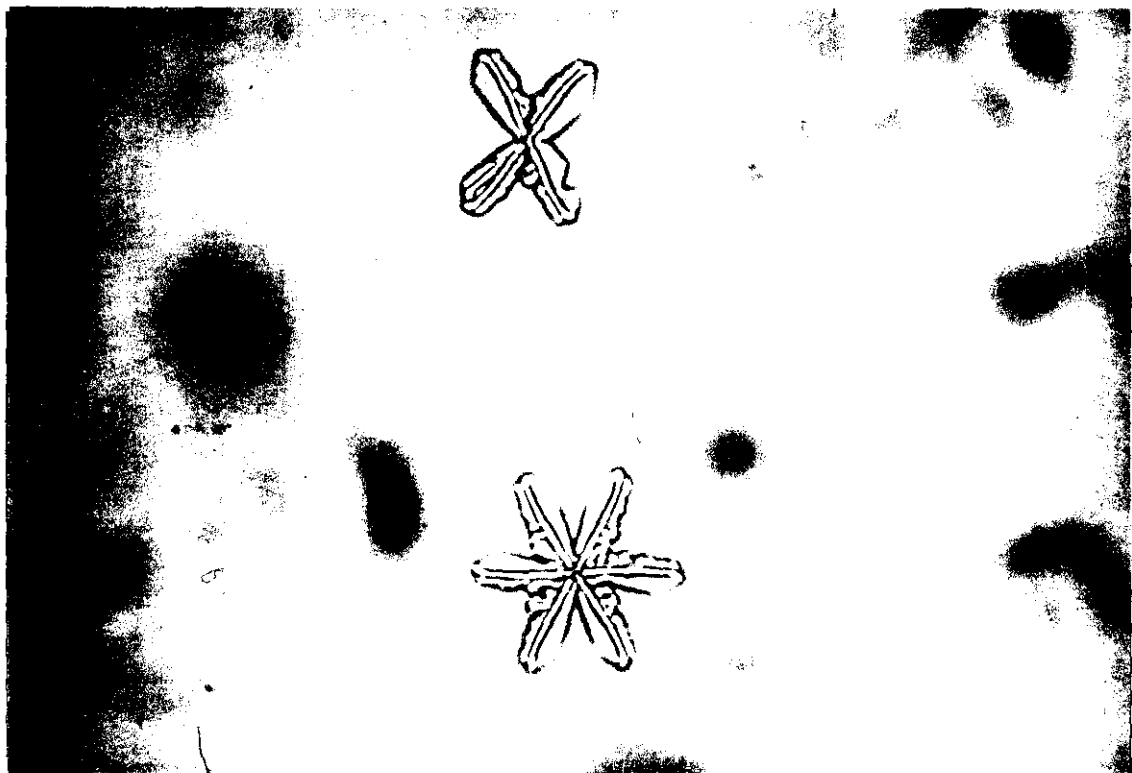


Fig. 6.5.XI. Micrografía óptica de cristales de estruvita obtenidos a pH 9 (x400).



Fig. 6.5.XII. Micrografía de barrido de cristales de estruvita obtenidos a pH 9.5.

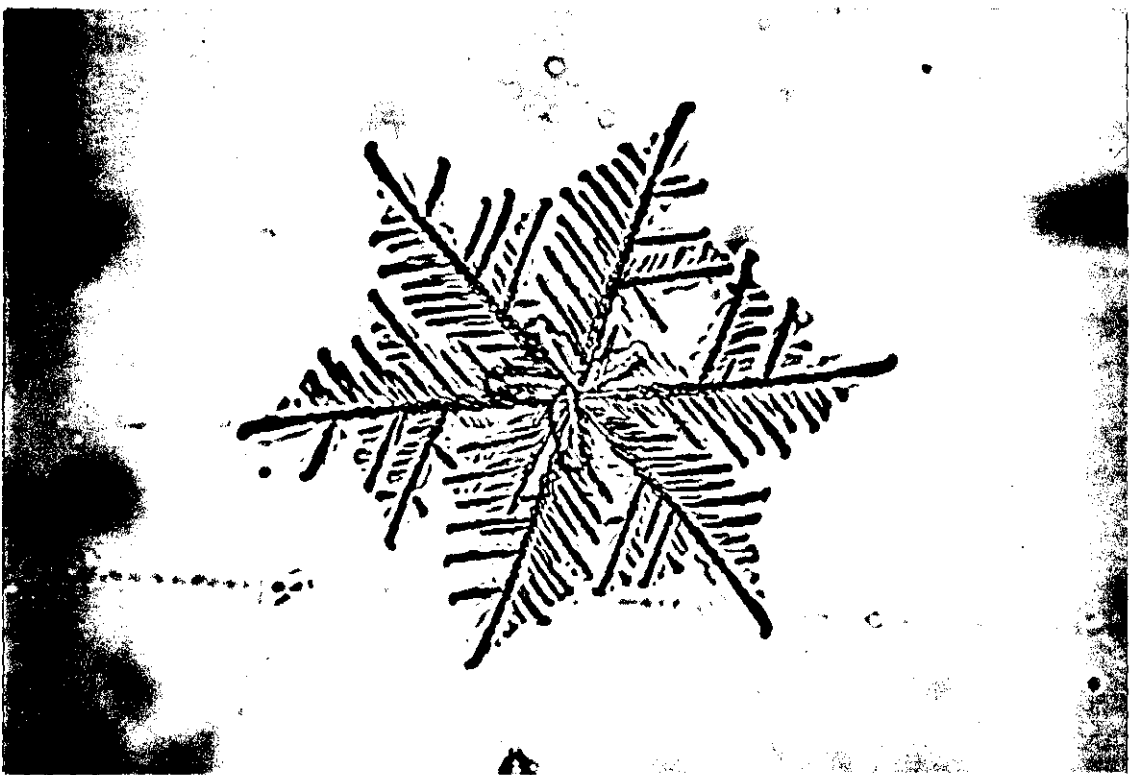


Fig. 6.5.XIII. Micrografía óptica de cristales de estruvita obtenidos a pH 9.5 (x400).



Fig. 6.5.XIV. Micrografía óptica de orina de gato a pH 9 (x400).



Fig. 6.5.XV. Micrografía óptica de orina de gato a pH 9 (x400).



Fig. 6.5.XVI. Micrografía óptica de orina de gato a pH 9 (x400).



Fig. 6.5.XVII. Micrografía óptica de orina de gato a pH 9 (x400).

7. Discusión

7. Discusión.

7.1. Estudio comparado de los resultados obtenidos de gatos control y de gatos problema en la primera y segunda experiencia.

El primer análisis que debemos realizar respecto a los parámetros urinarios obtenidos en los tres grupos de gatos de nuestro estudio (grupo control, grupo problema 1 y grupo problema 2) es la constatación o no de diferencias significativas entre ellos.

El análisis de varianza de los valores medios para la concentración de creatinina urinaria en cada grupo, no demuestra la existencia de diferencias significativas entre ellos (tabla 7.1.1.). Este hecho, por otra parte esperado, nos permite utilizar la creatinina como valor de referencia para el cálculo de la concentración de glicoproteínas en orina, expresado en forma de siálico/creatinina. Los valores de creatinina urinaria no son dependientes de la dieta.

La densidad urinaria media de cada uno de los grupos, tampoco presenta diferencias significativas (tabla 7.1.2.), habida cuenta que todos los animales están sujetos a las mismas condiciones de manejo (agua "*ad libitum*", jaulas metabólicas, etc.) y en ningún caso las muestras procesadas fueron obtenidas de gatos que presentaran evidentes signos clínicos de deshidratación, trastornos urinarios o desequilibrios endocrinos.

La creatinina como principal y más estable catabolito de eliminación urinaria, presentó una estrecha relación con la densidad urinaria en todos los grupos. El coeficiente de correlación para los tres grupos de gatos resultó altamente significativo, ajustándose la relación concentración de creatinina/densidad urinaria a la ecuación de una recta como recoge la tabla 7.1.3.

Al comparar los valores medios del resto de los parámetros (pH, proteínas y concentración de glicoproteínas urinarias) de los tres grupos comprobamos la existencia de diferencias significativas (tablas 7.1.4., 7.1.5. y 7.1.6.).

La diferencia de pH urinario constituía una de nuestras condiciones del estudio, mediante el empleo de dietas alcalinizantes de orina. Comprobamos como en el grupo alimentado con el pienso 2 se obtienen unos valores significativamente mayores de pH urinario que en el grupo alimentado con el pienso 1. Estos pH urinarios difieren a su vez, significativamente, de los obtenidos en los gatos control (tabla 7.1.4.1.).

La diferencia de concentración de proteínas en orina de 24 horas, podría ser explicada como resultado de la contaminación bacteriana que sufren las muestras durante su recogida y conservación, siendo más altas en aquellos grupos en los que el pH urinario es cercano a la neutralidad, lo que favorece una mayor proliferación bacteriana (tabla 7.1.5.1).

Los valores de glicoproteínas en orina de los tres grupos deben ser analizados y discutidos con profundidad, ya que en el primer ensayo se observa un incremento significativo respecto al grupo control (tabla 7.1.6.1.), mientras que en el segundo ensayo experimental sucede todo lo contrario, es decir, se observa un descenso significativo respecto al grupo control (tabla 7.1.6.2.).

Nuestra hipótesis de trabajo, consistía en que si administrabamos una dieta alcalinizante de orina provocaríamos una intensa cristaluria y la uretra reaccionaría frente a esta agresión aumentando la secreción de moco, que intervendría junto con los cristales de estruvita en la formación del tapón uretral.

Comprobamos que con el pienso 1 no se encontraban valores aumentados de glicoproteínas hasta transcurridos seis meses y en ningún animal se presentaron alteraciones de la micción (disuria, hematuria, estranguria, etc.) a pesar de que desde un primer momento se observó una abundante cristaluria. Pensamos en un primer momento que era necesario prolongar el tiempo de cristaluria para que apareciese la enfermedad hasta la obstrucción uretral. Con este fin se comenzó la segunda experiencia administrando una segunda dieta similar, también alcalinizante de orina, a la que aquí denominamos pienso 2. En esta segunda experiencia los valores de glicoproteínas en orina descendieron llamativamente (tabla 6.3.4.) sin embargo tres de estos gatos desarrollaron signos de afección urinaria.

Los valores de siálico/creatinina de las dos experiencias presentaron diferencias significativas (tabla 7.1.6.3.).

Pensamos que la explicación a estas diferencias habría que buscarla en la dieta, puesto que la única variable introducida fué el cambio de la partida de alimento seco. Ligado al descenso de glicoproteínas en la orina también observamos que los valores de pH, con el pienso 2, aumentaban por encima de los obtenidos en toda la experiencia anterior, alcanzando valores en todo momento superiores a 9.

Para evaluar estas diferencias, clasificamos los resultados de glicoproteínas, de los dos grupos problema, según los valores correspondientes de pH, en tres categorías: Orinas POCO alcalinas (pH 8 a 8'5), orinas ALCALINAS (pH 8'6 a 9) y orinas MUY alcalinas (pH > 9'1) y procedimos a su comparación (tabla 7.1.7.). El análisis de varianza demuestra la existencia de diferencias significativas entre los valores de glicoproteínas de las muestras agrupadas según su pH (tabla 7.1.7.1.).

El estudio estadístico demuestra que los valores de glicoproteínas excretadas en orina descienden a medida que aumenta el pH. La explicación posible es que dichas glicoproteínas no salgan al exterior porque se encuentran agregadas de forma insoluble dentro del tracto urinario, interactuando con los cristales de estruvita de forma física, fisico-química o química y produciendo lesiones urinarias.

Incorporamos a la comparación de los resultados de las dos experiencias, el grupo de valores de los animales control denominándolo grupo de animales con orina ÁCIDA (pH < 7'0) y NEUTRA (pH 7'1 a 7'9) (tabla 7.1.8.). A partir de estos resultados procedimos a estimar los valores medios de glicoproteínas en orina (Siálico/Creatinina) para cada una de las categorías (tabla 7.1.9.).

Tabla 7.1.1. Análisis de varianza de la concentración de creatinina entre los grupos control, experiencia 1 y experiencia 2.

Variable	Media	Des. Tip.	Err. Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
Control	482'605	135'003	22'5005	198'97	716'09	36
Exp. 1	495'887	130'2921	19'2105	197'96	883'75	46
Exp. 2	465'5949	147'3914	18'0067	129'28	882'74	67

Media global: 479'0566 Tamaño global: 149

Varianza factorial: 12812'4002 Grados de libertad: 2

Varianza residual: 19422'0791 Grados de libertad: 146

F experimental: 0'65968

No Significativo.

Tabla 7.1.2. Análisis de varianza de la densidad urinaria entre los grupos control, experiencia 1 y experiencia 2.

Variable	Media	Des. Tip.	Err. Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
Control	1'0575	0'014268	0'002378	1'025	1'080	36
Exp. 1	1'0562	0'011699	0'001725	1'025	1'075	46
Exp. 2	1'0558	0'011268	0'0013766	1'020	1'075	67

Media global: 1'0563 Tamaño global: 149

Varianza factorial: 0'00003372 Grados de libertad: 2

Varianza residual: 0'00014838 Grados de libertad: 146

F experimental: 0'22729

No significativo.

Tablas 7.1.3.

Ecuación lineal entre creatinina y densidad.

Variable	Media	Des. Tip.	Err. Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
Creatinina	479'0566	139'0423	11'3908	129'28	883'75	149
Densidad	1'0563	0'012118	0'00099271	1'020	1'080	149

Ecuación de la recta.

Ecuación	A	B	Err. Est. A	Err. Est. B	R
Lineal	-8480'7508	8481'9169	673'3421	637'3863	0'7392

Recta de regresión.

Factor	Varianza	G.L.	F	Nivel Sign.
Regresión	1563431'23	1	177'0853	$p < 0'01$
Residual	8828'6879	147		

Creatinina/densidad.

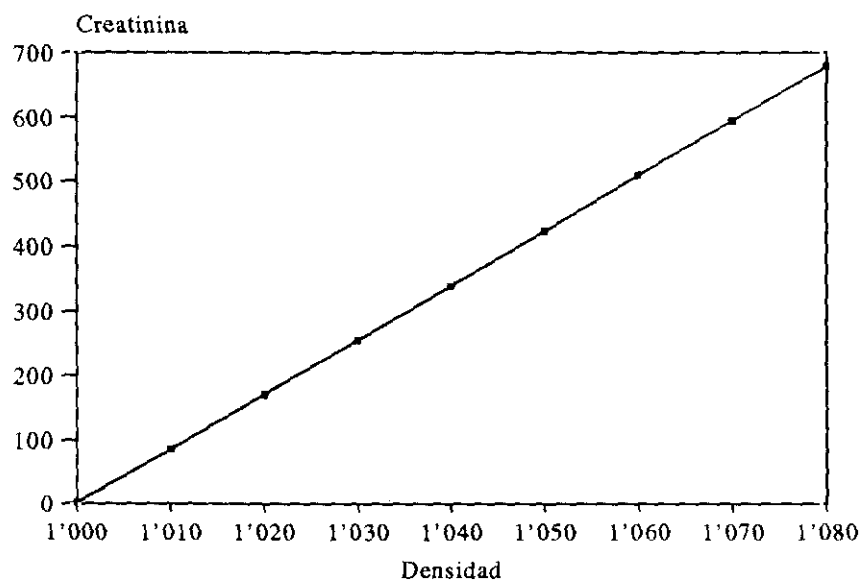


Tabla 7.1.4. Análisis de varianza entre el pH de los grupos control, experiencia 1 y experiencia 2.

Variable	Media	Des. Tip.	Err. Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
Control	7'8833	1	0'16667	6	9	36
Exp. 1	8'6957	0'38699	0'057058	8	9	46
Exp. 2	9'9701	0'24434	0'029851	8	10	67

Media global: 9'0604 Tamaño global: 149

Varianza factorial: 57'8885 Grados de libertad: 2

Varianza residual: 0'31287 Grados de libertad: 146

F experimental: 185'0224

Significativo ($p < 0'01$)

Tabla 7.1.4.1.

Var. 1	Var. 2	Diferencia	Tam. 1	Tam. 2	F	Niv.Sig.
Control	Exp. 1	-0'86232	36	46	23'9985	$p < 0'01$
Control	Exp. 2	-2'1368	36	67	170'8742	$p < 0'01$
Exp. 2	Exp. 1	1'2745	67	46	70'8001	$p < 0'01$

Tabla 7.1.5. Análisis de varianza entre las proteínas de los grupos control, experiencia 1 y experiencia 2.

Variable	Media	Des. Tip.	Err. Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
Control	86'8627	23'7057	5'451	45'286	177'64	36
Exp. 1	45'4156	24'9315	3'6759	9'14	121'97	46
Exp. 2	59'9893	48'7875	5'9603	3'05	177'21	67

Media global: 61'9829 Tamaño global: 149

Varianza factorial: 17588'1536 Grados de libertad: 2

Varianza residual: 1523'9985 Grados de libertad: 146

F experimental: 11'5408

Significativo ($p < 0'01$)

Tabla 7.1.5.1.

Var. 1	Var. 2	Diferencia	Tam. 1	Tam. 2	F	Niv.Sig.
Control	Exp. 1	41'4471	36	46	11'382	$p < 0'01$
Control	Exp. 2	26'8734	36	67	5'5484	$p < 0'01$
Exp. 2	Exp. 1	14'5737	67	46	1'9006	No

Tabla 7.1.6. Análisis de varianza entre siálico/creatinina de los grupos control, experiencia 1 y experiencia 2.

Variable	Media	Des. Tip.	Err. Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
Control	8'4543	4'6346	0'77243	1'4524	19'207	36
Exp. 1	10'5583	3'8784	0'57184	1'8942	19'2695	46
Exp. 2	6'8592	4'0238	0'49158	0'4038	16'2108	67

Media global: 8'3866 Tamaño global: 149

Varianza factorial: 186'717 Grados de libertad: 2

Varianza residual: 17'1045 Grados de libertad: 146

F experimental: 10'9163

Significativo ($p < 0'01$)

Tabla 7.1.6.1. Comparación siálico/creatinina en grupos control y experiencia 1.

	Media	Des. Tip.	Err. Est.	Tamaño
Control	8'4543	4'6346	0'77243	36
Exp. 1	10'5584	3'8784	0'57184	46

Diferencia = -2'104 Err.Est. = 0'94036 $t = -2'2374$ $gl = 80$

Prob. = 0'02804 Significativo ($p < 0'05$)

Var. homogénea = SI

Tabla 7.1.6.2. Comparación siálico/creatinina en grupos control y experiencia 2.

	Media	Des. Tip.	Err. Est.	Tamaño
Control	8'4543	4'6346	0'77243	36
Exp. 2	6'8592	4'0238	0'49158	67

Diferencia = 1'5952

Err.Est. = 0'8773 $t = 1'8183$ $gl = 101$

Prob. = 0'069025

Casi significativo ($p < 0'1$)

Var. homogénea = SI

Tabla 7.1.6.3. Comparación siálico/creatinina en grupos experiencia 1 y experiencia 2.

	Media	Des. Tip.	Err. Est.	Tamaño
Exp. 1	10'5584	3'8784	0'57184	46
Exp. 2	6'8592	4'0238	0'49158	67

Diferencia = -3'6992

Err.Est. = 0'75931 $t = -4'8717$ $gl = 111$

Prob. = 0

Significativo ($p < 0'001$)

Var. homogénea = SI

Tabla 7.1.7. Siálico/creatinina según grupos de pH en orinas problema.

Variable	Media	Des. Tip.	Err. Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
Poco Alc.	12'3324	3'7219	0'81219	6'0761	19'2695	21
Alcalino	9'1602	3'3689	0'66069	1'8942	13'6504	26
Muy Alc.	6'7895	4'0136	0'49404	0'4038	16'2108	66

Media global: 8'365 Tamaño global: 113

Varianza factorial: 255'4044 Grados de libertad: 2

Varianza residual: 14'6171 Grados de libertad: 110

F experimental: 17'4729

Significativo ($p < 0'01$)

Tabla 7.1.7.1.

Var. 1	Var. 2	Diferencia	Tamaño 1	Tamaño 2	F	Niv.Sig.
Poco Alc	Alcalino	3'1722	21	26	3'9987	$p < 0'05$
Poco Alc	Muy Alc.	5'5429	21	66	16'7426	$p < 0'01$
Alcalino	Muy Alc.	2'3707	26	66	3'5859	$p < 0'05$

Tabla 7.1.8. Para $p < 0'005$

Variable	Media	Des. Tip.	Err. Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
Ácido	11'7755	4'2369	1'498	5'0559	19'207	8
Neutro	5'9881	3'2984	1'1662	2'5227	10'8901	8
Poco Alc	11'8707	3'6066	0'62784	4'8053	19'2695	33
Alcalino	7'8723	3'8521	0'66063	1'4524	13'6504	34
Muy Alc.	6'7895	4'0136	0'49404	0'0438	16'2108	66

Media global: 8'3866 Tamaño global: 149

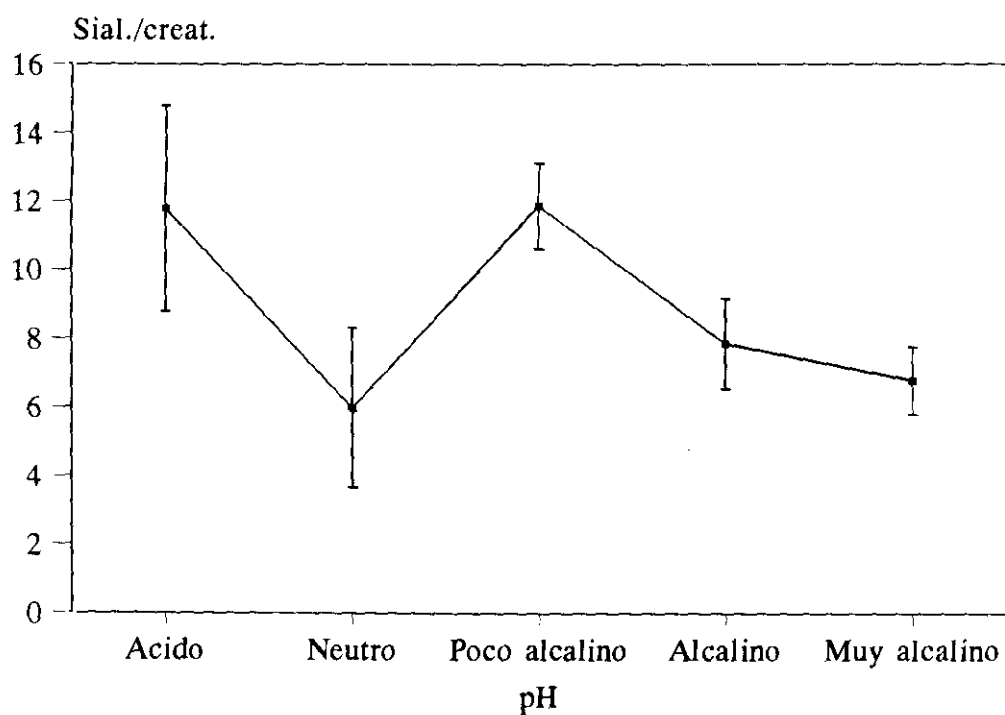
Varianza factorial: 178'9608 Grados de libertad: 2

Varianza residual: 14'9642 Grados de libertad: 144

F experimental: 11'9593

Significativo ($p < 0'01$)

Acido sialico/creatinina frente a pH.



7.2. Discusión del estudio histológico.

La morfología de la uretra sobre todo en relación a la mucosa (epitelio) es discrepante aún dentro de una misma especie animal y así podemos comprobar que entre libros tan clásicos como Ham y Bargman de histología humana no se ponen de acuerdo en cuanto a la cantidad de células caliciformes presentes en la primera parte de la fosa navicular de la uretra esponjosa. Mientras para Bargman son muy abundantes, para Ham sólo aparecen algunas células caliciformes en este tramo uretral.

En relación al gato aparecen algunas diferencias con otras especies en el tratado de Trautman y Fiebiger del año 1950.

Las estructuras uretrales se asemejan a las del perro a excepción de la ausencia de glándulas en la parte mas anterior de la uretra prostática según Bharadwaj. Las diferencias del epitelio en los distintos tramos no es tan evidente como en el hombre.

Nosotros hemos realizado el estudio en gatos normales de distintas edades, no encontrando diferencias estructurales con la edad. Pensamos que ante nuestras observaciones, la cantidad de glándulas intraepiteliales no justifican la formación de tapones mucosos.

7.3. Comparación de las diferentes formas de los cristales de estruvita dependiendo del valor pH.

Las formas encontradas por nosotros coinciden, tanto en los cristales simples como en los agregados, con las descritas por Abbona en 1985.

Como se puede observar en las imágenes obtenidas en orina (figuras 6.5.XIV., 6.5.XV., 6.5.XVI. y 6.5.XVII.) las formas encontradas en los gatos problema coinciden exactamente con las encontradas en la cristalización en laboratorio.

8. Conclusiones

8. Conclusiones.

1ª.- La cantidad de creatinina en orina tiene una relación directa con la densidad urinaria.

2ª.- A través de la dieta se puede modificar el pH urinario.

3ª.- Con un ligero aumento del pH urinario aparece cristalluria por estruvita.

4ª.- La excreción de glicoproteínas en orina es dependiente del pH urinario.

5ª.- Para valores de pH urinario menores de 8'5 las glicoproteínas urinarias se presentan en forma soluble eliminandose facilmente con la micción.

6ª.- Valores urinarios de pH mayores de 9 producen una disminución muy importante en la cantidad de glicoproteínas en orina, apareciendo alteraciones en la micción.

7ª.- La forma de los cristales de estruvita está ligada al pH en el que cristalizan.

9. Resumen

9. Resumen.

En el presente trabajo se cuantifican varios parámetros urinarios, relacionandolos entre sí.

Para este estudio, ha sido necesaria la creación de un grupo experimental de gatos que se dividió en dos animales control y ocho problema.

A los animales se les suministraron tres tipos de dieta: a los animales control, durante toda la experiencia, se les alimentó con un alimento seco preparado comercial. Los animales problema ingirieron dos tipos de dieta, una primera que situaba el valor de pH urinario en torno a 8'5 y una segunda que como resultado daba un pH 9'5.

Con la dieta "problema 1" suministrada durante catorce meses ininterrumpidamente, no se observaron signos de hematuria, disuria, polaquiuria ni obstrucción uretral y los valores de glicoproteínas urinarias aumentaban con relación a los controles.

Con la dieta "problema 2" a partir del cuarto mes de ingestión continuada, aparecieron trastornos de la micción en cuatro de los animales, llegando en uno de ellos a la obstrucción uretral completa, aunque los valores de glicoproteínas urinarias eran menores que los determinados con la dieta "problema 1" y en los animales control.

Al detectar, en los exámenes de sedimento urinario, una morfología dispar en los cristales de estruvita, nos planteamos realizar un estudio de cristalización, dejando fijada la variable concentración, alterando solo el pH de formación. Con este estudio obtuvimos formas cristalinas diferentes a pH 7, 7'5, 8, 8'5, 9 y 9'5.

10. Bibliografía

10. Bibliografía.

Abbona, F. and Boistelle, R. 1985 Nucleation of Struvite Single Crystals and aggregates. *Crystal Res. & Technol.*, 20:133-140.

Aminoff, D. 1961 Methods for the Quantitative Estimation of N-Acetylneuraminic Acid and their Application to Hydroxylates of Sialomucoids. *Biochem. J.*, 81:384-392.

Banks, A.W. 1992 Applied Veterinary Histology. 3^a ed. Mosby Year Book, Philadelphia.

Bargamann, W. 1981 Histología y anatomía microscópica humanas. 4^a ed. Espaxs.

Barker, J. and Povey, R.C. 1973 The feline urolithiasis syndrome: a review and an inquiry into the alleged role of dry cat foods in its aetiology. *Journal of Small Animal Practice*, 14:445-457.

Barragry, T. 1992 Therapy of uroliths - crystal clear. *Irish Vet. News*, 14:2-35.

Barsanti, J.A., Finco, D.R., Shotts, E.B., Blue, J. and Ross, L. 1982 a. Feline urologic syndrome: further investigation into etiology. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 18:391-395.

Barsanti, J.A., Finco, D.R., Shotts, E.B. and Ross, L. 1982 b. Feline urologic syndrome: further investigation into therapy. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 18:387-390.

Barsanti, J.A. and Finco, D.R. 1984 Management of Post-renal Uremia. *Vet. Clin. N. Am.-Small Anim. Pract.*, 14:609-616. **Barsanti, J.A. and Finco, D.R.** 1986 Feline urologic syndrome. *Nephrology and Urology*, 43-74.

- Barsanti, J.A.** 1988 Haematuria and dysuria in cats: diagnostic approach. *Point Veterinaire*, 20:117-124.
- Barsanti, J.A., Shotts, E.B., Crowell, W.A., Finco, D.R. and Brown, J.** 1992 Effect of therapy on susceptibility to urinary tract infection in male cats with indwelling urethral catheters. *J. Vet. Intern. Med.*, 6:64-70.
- Batamuzi, E.K.** 1995 Diagnostic Importance of Urothelial Cells of the Dog and Cat. *J. Small Animal Practice*, 36:17-21.
- Bharadwaj, M.B.** 1959 Histology of the Urethral Epithelium of Domestic Animals. *Am. J. Vet. Res.* 841-851.
- Biller, D.S., Kantrowitz, B., Partington B.P. and Miyabayashi, T.** 1990 Diagnostic ultrasound of the urinary bladder. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 26:397-402.
- Bojrab, M.J.** 1990 Treatment of urethral obstruction in the cat. In: *Current techniques in small animal surgery*. M.J. Bojrab, ed. Lea & Febiger,
- Brown, S.A. and Barsanti, J.A.** 1989 Diseases of the bladder and urethra. *Textbook of Veterinary Internal Medicine: diseases of the dog and cat*, 2:2108-2141.
- Browning, W., Martin, E.A., Schwabe, R., Park, V.R., Kime, K.K., Schwartz, A.E., Tuomi, P.A. and Brainard, D.A.** 1987 Management of feline urologic syndrome. *Mod. Vet. Pract.*, 68:114-116.
- Buffington, C.A., Rogers, Q.R., Morris, J.G. and Cook, N.E.** 1985 Feline struvite urolithiasis: magnesium effect depends on urinary pH. *Feline Pract.*, 15:29-33.

Buffington, C.A., Cook, N.E., Rogers, Q.R. and Morris, J.G. 1989 a. The role of diet in feline struvite urolithiasis syndrome. *Nutrition of the Dog and Cat*, 357-380.

Buffington, T. and Buffington, C.A. 1989 b. Struvite urolithiasis in cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 194:7-8.

Buffington, C.A. 1989 c. La nutrición y la urolitiasis por estruvita en el gato. *Vet. Int.*, 1:1-14.
Buffington, C.A., Rogers, Q.R. and Morris, J.G. 1990 Effect of diet on struvite activity product in feline urine. *Am. J. Vet. Res.*, 51:2025-2030.

Buffington, C.A., Blaisdell, J.L., Kawase, K. and Komatsu, Y. 1992 a. Effect of choreito on struvite solubility in cats. *Feline Pract.*, 20:13-17.

Buffington, C.A., Blaisdell, J.L. and Sako, T. 1992 b. Effect of albumin and Tamm-horsfall protein on struvite crystal growth in cat urine. *J. Vet. Intern. Med.*, 3:118.

Buonavoglia, C., Marsilio, F., Tempesta, M., Buonavoglia, D., Cirone, F. and Pestalozza, S. 1991 Isolation and identification of feline syncytium-forming virus (FeSFV) from a cat with urolithiasis. *Obiettivi e Documenti Veterinari*, 12:59-61.

Burrows, C.F. and Bovee, K.C. 1978 Characterization and treatment of acid-base and renal defects due to urethral obstruction in cat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 172:801-805.

Carbone, M.G. 1965 Phosphocrystaluria and urethral obstruction in the cat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 147:1195-1200.

Chew, D.J. and Dibartola, S.P. 1988 Síndrome urológico felino. In: *Manual de nefrología y urología de los pequeños animales*. Salvat Editores, ed. Salvat Editores, S.A., Barcelona, pp. 205-238.

- Clamp, J.R., Allen, A., Gibbons, R.A. and Roberts, G.P.** 1978 Chemical aspects of mucus. *Br. Med. Bull.*, 34:25-42.
- Creeth, J.M.** 1978 Constituents of mucus and their separation. *Br. Med. Bull.*, 34:17-24.
- Diez Bru, N.** 1993 Ecografía abdominal I: Sistema genitourinario. *Canis et Felis*, 5:25-37.
- Dische, Z., Shettles, L.B.** 1948 Determination of Fucose. *J. Biol. Chem.* 175: 595.
- Dorn, C.R., Saueressig, S. and Schmidt, D.A.** 1973 Factors Affecting Risk of Urolithiasis-Cystitis-Urethritis in Cats. *Am. J. Vet. Res.*, 34:433-436.
- Duch, D.S., Chow, F.C., Hamar, D.W. and Lewis, L.D.** 1978 The effect of castration and body weight on the occurrence of the feline urological syndrome. *Feline Pract.*, 8:35-40.
- Durham, R.M. and Broom, E.L.** 1983 A therapeutic preventive for feline urologic syndrome. *Vet. Med. Small Anim. Clin.*, 78:375-378.
- Edling, R., Douglass, G.M. and Rudnick, R.C.** 1990 The influence of diet composition and feeding pattern on urine pH, specific gravity and net acid excretion in cats. *Vet. International*, 2:21-23.
- Fabricant, C.G.** 1977 Herpesvirus-Induced Urolithiasis in Specific-Pathogen-Free Male Cats. *Am. J. Vet. Res.*, 38:1837-1842.
- Fabricant, C.G.** 1984 The feline urologic syndrome induced by infection with a cell-associated herpesvirus. *Vet. Clin. N. Am.-Small Anim. Pract.*, 14:493-502.
- Fachada, A.P.** 1991 Nutritional aspects of the feline struvite urolithiasis syndrome. *Revista Portuguesa de Ciencias Veterinarias*, 86:170-187.

Fernández, F., Luera, M., Prats, A., Lawler, D.F. Osborne, C.A. Stevens, J. and Camps, J. 1989 Actualidad del complejo urinario del gato. Pulso Ediciones,S.A., Barcelona.

Fertig, D.L. 1987 Basis of feline nutrition. *Vet. Rec.*, 121:263.

Finco, D.R. 1977 Medical management of the feline urologic syndrome. *Curr. Vet. Ther.*, 1184-1189.

Finco, D.R. 1981 Efficacy of Ethylenediamine Dihydrochloride in Dogs and Cats. *Am. J. Vet. Res.*, 42:670-673.

Finco, D.R., Barsanti, J.A. and Crowell, W.A. 1985 Characterization of magnesium-induced urinary disease in the cat and comparison with feline urologic syndrome. *Am. J. Vet. Res.*, 46:391-400.

Finco, D.R., Barsanti, J.A. and Brown, S.A. 1987 Ammonium chloride as a urinary acidifier in cats. *Clin. Insight*, 2:403-405.

Finke, M.D. and Litzenberger, B.A. 1992 Effect of food intake on urine pH in cats. *J. Small Anim. Pract.*, 33:261-265.

Follis, T.B. 1975 Feline urologic syndrome and dry cat food. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 167:421-424.

Gaskell, C.J., Denny, H.R., Jackson, O.F. and Weaver, A.D. 1978 Clinical management of the feline urological syndrome. *J. Small Anim. Pract.*, 18:301-314.

Gaskell, C.J. 1988 Feline urolithiasis: Some recent advances and controversial aspects. *Proceedings of the ESVNU Annual Symposium*, 50-54.(Abstract).

- Gaskell, C.J.** 1989 The role of fluid in the feline urological syndrome. *Nutrition of the Dog and Cat.*, 353-356.
- Gaskell, C.J.** 1990 a. Feline urological syndrome (FUS) - theory and practice. *J. Small Anim. Pract.*, 31:519-522.
- Gaskell, C.J.** 1990 b. Aparato urinario. In: *Medicina y terapéutica felinas*. E.A. Chandler, C.J. Gaskell and A.D.R. Hilbery, eds. Acribia, Zaragoza, pp. 155-175.
- Girardi, C., Colombatti, V., Valle, G. and Venturoli, F.** 1990 Urinary acidifying activity of methionine and ammonium chloride in dogs and cats. *Obiettivi e Documenti Veterinari*, 11:43-47.
- Goldston, R.T. and Seybold, I.M.** 1981 Feline urologic syndrome: incidence, diagnosis, and treatment. *Vet. Med. Small Anim. Clin.*, 76:1430-1431.
- Griffin, D.W. and Gregory, C.R.** 1992 Prevalence of bacterial urinary tract infection after perineal urethrostomy in cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 200:681-684.
- Guthrie, S.** 1987 Cystic calculi in cats. *Vet. Rec.*, 120:416-417.
- Hall Patch, S.** 1990 Magnesium in feline diets. *Vet. Times*, 20:1-8.
- Ham, A.W.** 1974 *Tratado de histología*. 7^a ed. Interamericana. Madrid.
- Hanson, P.R. and Morrison, W.B.** 1984 Feline urologic syndrome in the male cat. *Iowa State University Vet.*, 46:10-16.
- Harding, S.E.** 1989 The macrostructure of mucus glycoproteins in solution. *Adv. Carb. Chem. Bio.*, 47:345-381.

Hernanz, J.R. 1989 Radiology of the urethra. *Animalis Familiaris*, 4:2-8.

Hesse, A. and Sanders, G. 1985 A survey of urolithiasis in cats. *J. Small Anim. Pract.*, 26:465-476.

Holt, P.E. 1992 Aspects of feline urology. *Vet. Ann.*, 32:13-28.

Hutya, F., Marek, J. and Manninger, R. 1938 Diseases of the Kidney. In: *Special Pathology and Therapeutics of the Diseases of Domestic Animals*. Greig JR, Mohler JR and A. Eichhorn, eds. Eger, Chicago.

Jackson, O.F. 1975 The case against a viral aetiology in feline urolithiasis. *Vet. Rec.*, 96:70-71.

Jackson, O.F. 1976 The treatment of struvite urethral obstruction in cats using Walpole's acetate buffer solution pH 4.5. *Feline Pract.*, 6:52-54.

Jackson, O.F. and Tovey, J.D. 1977 Water balance studies in domestic cats. *Feline Pract.*, 7:30-33.

Johnston, G.R. and Feeney, D.A. 1984 Localization of Feline Urethral Obstruction. *Vet. Clin. N. Am.-Small Anim. Pract.*, 14:555-566.

Jones, B.R. 1991 Feline lower urinary tract disease. Publication Vet. Continuing Education, Massey University, 133:55-67.

Jones, R. and Reid, L. 1978 Secretory cells and their glycoproteins in health and disease. *Br. Med. Bull.*, 34:9-16.

Kienzle, E. 1991 Nutrition and urolithiasis in domestic mammals. *Ubersichten zur Tierernahrung*, 19:157-200.

Kirk, H. 1925 Urino-genital diseases. In: *Diseases of the Cat*. Eger, Chicago, pp. 261-273.

Kramer, E. and Kramer, H.H. 1989 Modified treatment method (urethra splitting) for feline urological syndrome. *Monatshefte fur Veterinarmedizin*, 44:267-268.

Kruger, J.M., Osborne, C.A., Goyal, S.M., Wickstrom, S.L., Johnston, G.R., Fletcher, T.F. and Brown, P.A. 1991 Clinical evaluation of cats with lower urinary tract disease. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 199:211-216.

Lavin Cunliffe, L.M. 1989 Feline cystography and urethrography: technical use in practice. *Vet. Tech.*, 10:364-372.

Lawler, D.F. 1988 New concepts of feline lower urinary tract disease. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.*, 10:1015-1026.

Lees, G.E., Osborne, C.A., Stevens, J.B. and Ward, G.E. 1981 Adverse Effects of Open Indwelling Urethral Catheterization in Clinically Normal Male Cats. *Am. J. Vet. Res.*, 42:825-833.

Lees, G.E. 1984 Epidemiology of Naturally Occurring Feline Bacterial Urinary Tract Infections. *Vet. Clin. N. Am.-Small Anim. Pract.*, 14:471-479.

Lees, G.E., Simpson, R.B. and Green, R.A. 1984 Results of analyses and bacterial cultures of urine specimens obtained from clinically normal cats by three methods. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 184:449-454.

Lees, G.E., Rogers, K.S. and Wolf, A.M. 1989 Diseases of the Lower Urinary Tract. In: The Cat. Diseases and Clinical Management. R.G. Sherding, ed. Churchill Livingstone Inc., New York, pp. 1397-1454.

Lewis, L.D., Chow, F.H.C., Taton, G.F. and Hamar, D.W. 1978 Effect of Various Dietary Mineral Concentrations on the Occurrence of Feline Urolithiasis. J. Am. Vet. Med. Assoc., *172*:559-563.

Lewis, L.D. 1981 Nutritional Causes and Management of Feline Urolithiasis. AAHA's 48th Annual Meeting Proceedings, 273-284.

Lewis, L.D. and Morris, M.L.J. 1984 a. Feline urologic syndrome: causes and clinical management. Vet. Med. Small Anim. Clin., *79*:323-337.

Lewis, L.D. and Morris, M.L.J. 1984 b. Treatment and prevention of feline struvite urolithiasis. Vet. Clin. N. Am.-Small Anim. Pract., *14*:649-660.

Lewis, L.D. and Morris, M.L.J. 1985 Economics and rationale of dietary management of feline urologic syndrome. Mod. Vet. Pract., *66*:723-726.

Ling, G.V., Franti, C.E., Ruby, A.L. and Johnson, D.L. 1990 Epizootiologic evaluation and quantitative analysis of urinary calculi from 150 cats. J. Am. Vet. Med. Assoc., *196*:1459-1469.

Lloyd, W.E. and Sullivan, D.J. 1984 Effects of orally administered ammonium chloride and methionine on feline urinary acidity. Vet. Med., *773*-778.

Lulich, J.P. and Osborne, C.A. 1992 Catheter-assisted retrieval of urocystoliths from dogs and cats. J. Am. Vet. Med. Assoc., *201*:111-113.

Lulich, J.P., Osborne, C.A., Carlson, M., Unger, L.K., Samelson, L.L., Koehler, L.A. and Bird, K.A. 1993 Nonsurgical removal of urocystoliths in dogs and cats by voiding urohydropropulsion. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 203:660-663.

Markwell, P. and Gaskell, C.J. 1991 Progresos en la comprensión de las enfermedades del tracto urinario inferior del gato. *Focus*, 1:22-29.

Martens, J.G., McConnell, S. and Swanson, C.L. 1984 The role of infectious agents in naturally occurring feline urologic syndrome. *Vet. Clin. N. Am.-Small Anim. Pract.*, 14:503-511.

Mawby, D.I., Meric, S.M., Crichlow, E. and Papich, M.G. 1989 Pharmacologic relaxation of the urethra in male cats: a study of the effects of phenoxybenzamine, diazepam, xylazine and nifedipine. *J. Vet. Intern. Med.*, 3:117.

Michell, A.R. 1988 Urolithiasis: historical and pathophysiological background. In: *Proceedings of the ESVNU Annual Symposium. Intercongress*, ed. Barcelona,

Morgan, A.F. 1979 Chronic irritation as a cause of bladder stones in cats. *Feline Pract.*, 9:41-42.

Morris, E.R. and Rees, D.A. 1978 Principles of biopolimer gelation: possible models for mucus gel structure. *Br. Med. Bull.*, 34:49-54.

Moser, E. and Branam, J.E. 1990 Topical issues in feline nutrition. *Comp. Cont. Educ. Pract. Vet.*, 12:1227-1230.

Nguyen, P. and Dumon, H. 1990 Dietary peculiarities of the cat. *Recueil de Medecine Veterinaire*, 166:561-572.

Osborne, C.A., Johnston, G.R., Polzin, D.J., Kruger, J.M., Bell, F.W., Poffenbarger, E.M., Feeney, D.A., Stevens, J.B. and McMenomy, M.F. 1984 a. Feline urologic syndrome: a heterogeneous phenomenon? J. Am. Anim. Hosp. Assoc., 20:17-32.

Osborne, C.A., Johnston, G.R., Polzin, D.J., Kruger, J.M., Poffenbarger, E.M., Bell, F.W., Feeney, D.A., Goyal, S., Fletcher, T.F., Newman, J.A., Stevens, J.B. and McMenomy, M.F. 1984 b. Redefinition of the feline urologic syndrome: feline lower urinary tract disease with heterogeneous causes. Vet. Clin. N. Am.-Small Anim. Pract., 14:409-438.

Osborne, C.A., Kruger, J.M., Polzin, D.J., Johnston, G.R., Poffenbarger, E.M., Bell, F.W., Goyal, S., Newman, J.M., Fletcher, T.F., Levine, S.H., Jenkins, D.M., McCarthy, R.J., O'Keefe, D.A. and McMenomy, M.F. 1984 c. Medical dissolution of feline struvite uroliths. Minnesota Vet., 24:22-32.

Osborne, C.A., Polzin, D.J., Johnston, G.R. and Fletcher, T.F. 1984 d. Diagnosis of the feline urologic syndrome. Vet. Clin. N. Am.-Small Anim. Pract., 14:575-583.

Osborne, C.A., Polzin, D.J., Abdullahi, S.U., Leininger, J.R., Clinton, C.W. and Griffith, D.P. 1985 Struvite urolithiasis in animals and man: formation, detection, and dissolution. Adv. Vet. Sci. Comp. Med., 29:1-101.

Osborne, C.A., Kroll, R.A., Lulich, J.P., Johnston, G.R. and Kruger, J.M. 1989 Medical management of vesicourachal diverticula in 15 cats with lower urinary tract disease. J. Small Anim. Pract., 30:608-612.

Osborne, C.A., Polzin, D.J., Kruger, J.M., Lulich, J.P., Johnston, G.R. and O'Brien, T.D. 1989 Relationship of nutritional factors to the cause, dissolution, and prevention of feline uroliths and urethral plugs. Vet. Clin. N. Am.-Small Anim. Pract., 19:561-581.

Osborne, C.A. and Brovida, C. 1990 a. Feline urological syndrome: treatment procedures. *Veterinaria Cremona*, 4:21-25.

Osborne, C.A., Lulich, J.P., Bartges, J.W. and Felice, L.J. 1990 b. Medical dissolution and prevention of canine and feline uroliths: diagnostic and therapeutic caveats. *Vet. Rec.*, 127:369-373.

Osborne, C.A., Lulich, J.P., Kruger, J.M., Polzin, D.J., Johnston, G.R. and Kroll, R.A. 1990 c. Medical dissolution of feline struvite urocystoliths. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 196:1053-1063.

Osborne, C.A., Davis, L.S., Sanna, J., Unger, L.K., O'Brien, T.D., Clinton, C.W. and Davenport, M.P. 1990 d. Urine Crystals in Domestic Animals. A Laboratory Identification Guide. *Vet. Med.*, 85:18-37.

Osborne, C.A., Caywood, D.D., Johnston, G.R., Polzin, D.J., Lulich, J.P. and Kruger, J.M. 1991 Perineal urethrostomy versus dietary management in prevention of recurrent lower urinary tract disease. *J. Small Anim. Pract.*, 32:296-305.

Osborne, C.A., Kruger, J.P., Lulich, J.P., Bartges, J.W., Polzin, D.J., Molitor, T., Beauclair, K.D. and Onffroy, J. 1992 Feline matrix-crystalline urethral plugs: a unifying hypothesis of causes. *J. Small Anim. Pract.*, 33:172-177.

Osborne, C.A., Kruger, J.M., Lulich, J.P. and Polzin, D.J. 1995 Feline Lower Urinary Tract Diseases. In: *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. S.J. Ettinger and E.C. Feldman, eds. Saunders Company, Philadelphia, pp. 1805-1832.

Parke, D.V. 1978 Pharmacology of mucus. *Br. Med. Bull.*, 34:89-94.

Phelps, C.F. 1978 Biosynthesis of mucus glycoprotein. *Br. Med. Bull.*, 34:43-48.

Philip, S. 1990 Urine collection in cats and dogs. Part II. Urinary catheterization. *Vet. Tech.*, 11:21-32.

Rebollo, M.A. 1973 *Histología*. 3^a ed. Intermédica. Buenos Aires.

Reid, L. and Clamp, J.R. 1978 The biochemical and histochemical nomenclature of mucus. *Br. Med. Bull.*, 34:5-8.

Rhodes, D.C.J., Hinsman, E.J., Rhodes, J.A. and Hawkins, E.C. 1992 Urinary Tamm-Horsfall glycoprotein concentrations in normal and urolithiasis-affected male cats determined by an ELISA. *J. Vet. Med.*, 39:621-634.

Rich, L.J. and Kirk, R.W. 1969 The Relationship of Struvite Crystals to Urethral Obstruction in Cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 154:153-157.

Robards, A.W. and Wilson, A.J. 1993 *Procedures in Electron Microscopy*. Ed. John Willy & Sons, Chichester.

Ross, L.A. 1990 (1) Feline urologic syndrome. 1. Understanding and diagnosing this enigmatic disease. 2. The protocol for treating cats with urethral obstructions. 3. Treating FUS in obstructed cats and preventing its recurrence. *Vet. Med.*, 85:1194-1222.

Ryan, C.P. 1989 Asymptomatic nephrolithiasis in a cat. *Companion Anim. Pract.*, 19:6-24.

Scott, R.C. 1985 Enfermedades urológicas felinas. In: *Clínicas veterinarias de Norte América. La medicina en el gato*. Hemisferio Sur., ed. Hemisferio Sur, S.A., Buenos Aires, pp. 189-206.

Senior, D.F., Sundstrom, D.A. and Wolfson, B.B. 1986 Testing the effects of ammonium chloride and dl-metionine on the urinary pH of cats. *Vet. Med.*, 88-93.

Shaw, D.C. 1990 Lower urinary tract infections: how they arise and how the body combats them. *Vet. Med.*, 85:344-349.

Sherding, R.G. 1977 The clinical manifestations and treatment of the feline urologic syndrome. Proceedings of the Kal Kan Symposium for the Treatment of Dog and Cat Diseases, Ohio State University, September, 19-20, 1977, 32-35.

Skelcher, P.B. and Steele, R.B.T. 1978 Use of a silicone shunt for the surgical relief of feline urethral obstruction. *Vet. Rec.*, 102:98-99.

Skoch, E.R., Chandler, E.A., Douglass, G.M. and Richardson, D.P. 1991 Influence of diet on urine pH and the feline urological syndrome. *J. Small Anim. Pract.*, 32:413-419.

Steyn, P.F. and Lowry, J. 1991 Positional radiography as an aid to diagnose sand-like uroliths in the urinary bladder of feline urologic syndrome cats. *Feline Pract.*, 19:21-23.

Tarttelin, M.F. 1987 a. Feline struvite urolithiasis: fasting reduced the effectiveness of a urinary acidifier (ammonium chloride) and increased the intake of a low magnesium diet. *Vet. Rec.*, 121:245-248.

Tarttelin, M.F. 1987 b. Feline struvite urolithiasis: factors affecting urine pH may be more important than magnesium levels in food. *Vet. Rec.*, 121:227-230.

Taton, G.F., Hamar, D.W. and Lewis, L.D. 1984 I. Evaluation of ammonium chloride as a urinary acidifier in the cat. II. Urinary acidification in the prevention and treatment of feline struvite urolithiasis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 184:433-443.

Trautman, A., Fiebiger, T.J. 1950 Histología y anatomía microscópica comparada de los animales domésticos. Labor S.A.

Voros, K., Felkai, C., Vrabely, T., Papp, T. and Horvath, L. 1992 Ultrasonic diagnosis of urinary tract disorders in dogs and cats. *Wiener Tierarztliche Monatsschrift*, 79:20-29.

Warren, L. 1959 The Thiobarbituric Acid Assay of Sialic Acids. *J. Biochem.*, 234:1971-1975.

Weiss, L., Greep, R.O. 1982 *Histología*. 4^a ed. Buenos Aires.

Widdicombe, J.G. 1978 Control of secretion of tracheobronchial mucus. *Br. Med. Bull.*, 34:57-62.

Willeberg, P. 1984 Epidemiology of naturally occurring feline urologic syndrome. *Vet. Clin. N. Am.-Small Anim. Pract. Practice.*, 14:455-469.

Wolter, R. 1990 Urolithiasis in cats and dietary prevention. *Pratique Medicale and Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, 25:255-267.